

UNIVERSITE DE LYON
FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

N° 503

**CONTRIBUTION A L'ETUDE
DE L'ACTIVITE RADIOPROTECTRICE EVENTUELLE
DE
QUELQUES METAUX A L'ETAT IONIQUE OU CHELATE**

T H È S E

pour le Doctorat de l'Université de Lyon, Section de Pharmacie
présentée et soutenue publiquement
devant LA FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

le 20 Décembre 1963

par

Jean TINÉ

Pharmacien Lieutenant
né le 23 Janvier 1937
à TOULON (Var)

Travail du Laboratoire de Pharmacologie de la Faculté et de la
Division de Chimie Pharmacologie du Centres de Recherches
du Service de Santé des Armées.

F. ANDRE

5, rue Bugeaud

LYON

1963

UNIVERSITE DE LYON
FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

N° 503

**CONTRIBUTION A L'ETUDE
DE L'ACTIVITE RADIOPROTECTRICE EVENTUELLE
DE
QUELQUES METAUX A L'ETAT IONIQUE OU CHELATE**

THÈSE

pour le Doctorat de l'Université de Lyon, Section de Pharmacie
présentée et soutenue publiquement
devant LA FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

le 20 Décembre 1963

par

Jean TINÉ

Pharmacien Lieutenant
né le 23 Janvier 1937
à TOULON (Var)

Travail du Laboratoire de Pharmacologie de la Faculté et de la
Division de Chimie Pharmacologie du Centres de Recherches
du Service de Santé des Armées.

F. ANDRE
5, rue Bugeaud
LYON

1963



FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

PERSONNEL DE LA FACULTE

Doyens honoraires :

M. J. LEPINE : Membre de l'Institut,
M. H. HERMANN : Correspondant de l'Institut.

Doyen :

M. J.F. CIER

Assesseurs :

M. M. LEVRAT
M. L. REVOL

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. COLLET, GUIART, PATEL, LEPINE, TRILLAT, MOURIQUAND, MAZEL, GARIN, GATE, MARTIN, GABRIELLE, SANTY, DUCLOS, GUILLEMINET, HERMANN, ROCHET.

PROFESSEURS

MM. CIBERT	Clinique urologique.
PONTHUS (détaché à Beyrouth)	Physique biologique.
DECHAUME	Clinique neuro-psychiatrique et d'hygiène mentale.
CHAMBON	Chimie organique et toxicologie.
WERTHEIMER	Clinique chirurgicale B.
PAUPERT-RAVAULT	Clinique médicale B.
FROMENT	Clinique et prophylaxie cardio-vasculaires.
CROIZAT	Clinique médicale C.
ENSELME	Chimie biologique et médicale.
MALLET-GUY	Clinique chirurgicale A.
REVOL	Pharmacie galénique.
POLLOSSON	Clinique gynécologique.
PIGEAUD	Clinique obstétricale.
BOURRET	Médecine du travail.
LEVRAT	Clinique médicale A.
SOHIER	Hygiène et action sanitaire et sociale.
NETIEN	Botanique et cryptogamie.
BERTRAND	Clinique chirurgicale C.
BADINAND	Chimie analytique pharmaceutique.
DREVON	Pharmacie chimique et pharmacologie.
ROCHE	Médecine légale et déontologie.
COUDERT	Parasitologie et pathologie exotique.
MOUNIER-KUHN	Clinique d'oto-rhino-laryngologie et d'audio-phonologie.
PAUFIQUE	Clinique ophtalmologique.
THIERS	Clinique de dermatologie, syphiligraphie et allergologie.
BRUN	Clinique de pneumo-phtisiologie.
CREYSSEL	Clinique traumatologique des membres.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554212_0029

MM. DARGENT	Clinique carcinologique.
GUICHARD	Anatomie pathologique.
GIRARD Paul	Pathologie générale et expérimentale.
LATARJET	Anatomie.
PEYCELON	Pathologie chirurgicale.
GIRARD Marcel	Thérapeutique.
VACHON	Pathologie médicale.
GALY	Physio-pathologie des voies respiratoires.
PAPILLON	Radiologie.
JEUNE	Clinique des maladies infectieuses.
GONIN	Hydrologie thérapeutique, climatologie et écologie sociale.
MONNET	Bactériologie.
BANSSILLON	Physiologie et pathologie obstétricales.
CHATONNET	Physiologie B.
GUINET	Clinique endocrinologique.
TRILLAT	Clinique de chirurgie orthopédique.
FREIDEL	Clinique stomatologique.
MARION Joseph	Clinique de chirurgie et d'orthopédie infantiles.
DORCHE	Matière médicale et législation pharmaceutique.
DUMONT Louis	Histologie et embryologie.
PERROT	Chimie.
CIER J.F.	Physiologie A.
PERRIN J.	Thérapeutique chirurgicale et chirurgie opératoire.
X...	Clinique médicale infantile et hygiène du premier âge.
X...	Biologie médicale et pharmacodynamie.

PROFESSEURS A TITRE PERSONNEL

MM. BERGER	Physique nucléaire appliquée à la médecine.
BERTOYE	Bactériologie.
MANSUY	Neuro-chirurgie.
COLLET	Chimie pharmaceutique.
SARROUY	Clinique de pédiatrie.
LACROIX	Climatologie.
LIARAS	Clinique chirurgicale propédeutique.
LECUIRE	Neuro-chirurgie.
REVOL	Médecine générale.
GOINARD	Thérapeutique chirurgicale.

PROFESSEURS SANS CHAIRE

MM. ROMAN	Parasitologie.
CIER André	Pharmacie chimique et pharmacologie.
FEROLDI	Anatomie pathologique.
MORET	Physique biologique.

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES TITULAIRES

- MM. CREYSSEL Roger	Chimie biologique.
THIVOLET	Hygiène.
GARIN	Parasitologie.
PINET	Electro-radiologie.
ODDOUX	Botanique et cryptogamie.
De SOLLIERS	Chimie analytique.
TOLOT	Médecine du travail.
DESPIERRES	Médecine générale.
GUYOTAT	Neuro-psychiatrie.
- DESCOTES	Chirurgie générale.
JOUVET	Pathologie expérimentale.
PEYRIN	Physique biologique.
TOMMASI	Anatomie pathologique.
- BUFFARD	Electro-radiologie.
LEJEUNE	Médecine générale et thérapeutique.
De MOURGUES F.	Stomatologie
NAUSSAC	Maladies infectieuses.
REBOUILLAT	Chirurgie générale.
ROMAGNY	Pédiatrie.

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES STAGIAIRES

- MM. DUCROUX	Anatomie.
BRETTE	Thérapeutique.
BOUCHET	Anatomie.
FAVRE-GILLY	Hématologie.
GIROD	Histologie et embryologie.
GRAS	Chimie biologique.
MALLEIN	Chimie analytique.
RIFFAT	Hygiène.
- FAUCON	Biologie médicale et pharmacodynamie.
FLANDROIS	Physiologie.
VIALIER-RAYNARD	Bactériologie.

AGREGES EN EXERCICE

- MM. BURTHIAULT	Obstétrique.
FRANCOIS	Pédiatrie et puériculture.
GIGNOUX	Oto-rhino-laryngologie.
GUILLEMIN	Chirurgie générale.
LAUBERT DE BEAUJEU	Chirurgie générale.
MARION Pierre	Chirurgie générale.
MICHAUD	Chirurgie générale.
PLAUCHU	Médecine générale.
PONT	Médecine générale.
SAUTOT	Chirurgie générale.
TRAEGER	Médecine générale.
VIGNON	Médecine générale.
- BONAMOUR	Ophthalmologie.
COLIN	Médecine légale.

MM. COLOMB	Dermatologie.
De MOURGUES Georges	Chirurgie générale.
DEVIC	Médecine générale.
DUMONT Martial	Obstétrique.
DURAND	Urologie.
FRANÇILLON	Chirurgie générale.
SAUBIER	Chirurgie générale.
SCHOTT	Neuro-psychiatrie.
- ALLEGRE	Neuro-chirurgie.
CHASSARD	Electro-radiologie.
FAYSSE	Orthopédie.
GAILLARD	Oto-rhino-laryngologie.
GARDE	Médecine générale.
HUGONNIER	Ophtalmologie.
KALB	Pneumo-phthisiologie.
LARBRE	Médecine générale.
MARET	Chirurgie générale.
MORNEX	Médecine générale.
NORMAND	Médecine générale.
PERRIN André	Médecine générale.
- BETHENOD	Pédiatrie et puériculture.
DUMAS	Stomatologie.
FIES	Médecine générale.
GARMIER	Obstétrique.
LAMBERT	Médecine générale.
MICHOULIER	Chirurgie générale.
NOEL	Médecine générale.
ROBERT	Médecine générale.
SCHEPP	Orthopédie.

EXAMINATEURS DE LA THESE

MM. CIER A. Président
DREVON B.
REVOL L.
PEYRIN J.O.

A ma Femme,
avec tout mon Amour.

A nos Fils, Frédéric et Jean-Claude.

A mes Parents,

Je ne saurais leur exprimer toute mon affection
et ma gratitude.

A mon Frère,

A mes Beaux-Parents,
en affectueux hommage

A ma Famille,

A mes Amis.

Ce travail a été réalisé au Laboratoire de Pharmacologie de la Faculté et à la division de Chimie et Pharmacologie du Centre de Recherches du Service de Santé des Armées.

Nous ne saurions l'exposer sans exprimer à notre maître, Monsieur le Professeur CIER, notre respectueux attachement et notre entier dévouement. Il nous a confié ce travail et nous a prodigué avec sollicitude ses conseils et ses encouragements. En acceptant de présider notre Jury, il nous donne une nouvelle preuve de sa bienveillance.

Monsieur le Professeur DREVON a été pour nous à la Faculté un maître apprécié. Il a bien voulu accepter de faire partie de nos juges. Nous lui présentons, en même temps que nos vifs remerciements, l'assurance de notre entière gratitude.

Monsieur le Professeur REVOL nous a accueilli avec bienveillance dans son laboratoire pendant nos études. Nous le remercions vivement d'avoir consenti à juger ce travail et nous le prions de trouver ici le témoignage de notre reconnaissance et de notre dévouement.

Nous sommes heureux d'avoir pu bénéficier de l'enseignement de Monsieur le Professeur Agrégé PEYRIN et de le compter aujourd'hui parmi nos juges. Qu'il veuille bien accepter notre respectueuse reconnaissance.

Monsieur le Pharmacien Capitaine NOFRE a été un guide de tous les jours. Il nous a en toutes circonstances dispensé son savoir. Sa volonté, son expérience ont contribué à modeler notre esprit et enrichir nos connaissances. Qu'il veuille bien accepter nos remerciements et croire à notre sincère amitié.

Nous exprimons notre sincère gratitude à Monsieur André REVOL qui a mis pendant nos études ses connaissances au service de notre inexpérience. Son enthousiasme, sa simplicité, sa gentillesse sont pour nous autant d'exemples que nous aimerions pouvoir suivre.

L'expérimentation qui fait l'objet de cette thèse a pu être menée à bien grâce à la subvention de la Direction des Recherches et Moyens d'Essais (Professeur MALAVARD). Qu'il nous soit permis de remercier Monsieur le Pharmacien Colonel PRECEPTIS, Chef de la Section de Chimie Biologique de cet organisme, pour l'intérêt qu'il a bien voulu porter à ce travail.

Nous voudrions d'autre part associer à ce travail tous nos camarades du Laboratoire du Centre de Recherches du Service de Santé des Armées ainsi que le personnel du Centre Lyonnais d'Applications Atomiques, pour leur précieuse collaboration.

A nos Maîtres et à nos Chefs
du Service de Santé Militaire,
en hommage respectueux.

P L A N

- INTRODUCTION

I - GENERALITES

I₁ - Moyens d'études de la radiosensibilité. Tests d'activité radioprotectrice ou sensibilisante.

I₂ - Radioprotecteurs

I₂ - 1. Composés sulfhydrylés et soufrés

I₂ - 2. Dérivés aminés

I₃ - Radiosensibilisants

I₄ - Mécanismes d'action des agents chimiques capables de modifier la radiosensibilité

I₄ - 1. Radiosensibilisants

I₄ - 2. Radioprotecteurs

II - TRAVAIL PERSONNEL

II₁ - Technique expérimentale

II₁ - 1. Moyens mis en oeuvre

II₁ - 2. Protocole expérimental

II₁ - 3. Planification des expériences

II₂ - Résultats

II₂ - 1. Valeur de la DL₅₀

II₂ - 2. Modifications de la radiosensibilité chez la souris par des ions métalliques et certains de leurs chélates à l'EDTA

II₂ 3. Résultats de l'analyse séquentielle selon KIMBALL et courbe de survie/30 jours

II₃ - Discussion des résultats

II₃ - 1. Validité des protocoles expérimentaux

II₃ - 2. Résultats et essais d'interprétations

- CONCLUSIONS

- BIBLIOGRAPHIE

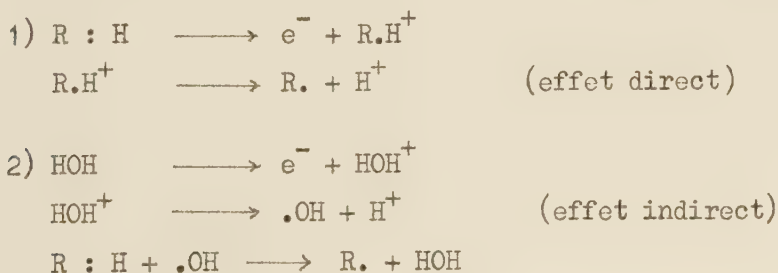
INTRODUCTION

L'ère de l'énergie atomique pose de façon aiguë le problème de la protection de l'individu, et plus généralement de la matière organisée ou non, contre les effets nuisibles des radiations ionisantes, que ceux-ci soient à court terme ou à longue échéance. En dehors de la solution qui consiste à retirer l'homme du milieu soumis aux rayonnements ou à le protéger par des écrans, la recherche rationnelle de moyens pouvant assurer une protection efficace a, sans doute, comme préalable, l'étude des processus biochimiques initiaux qui se déroulent dans la cellule et le tissu irradiés.

Responsables en définitive de la radio-lésion organique, ceux-ci sont encore bien mal connus, mais on possède cependant quelques notions sur les effets primaires de l'irradiation et il ne nous a pas paru dénué d'intérêt d'en rappeler les grandes lignes comme préambule à ce travail.

Il semble bien admis à l'heure actuelle que l'action biologique des radiations ionisantes est la conséquence de deux types d'effets, direct et indirect, qui doivent d'ailleurs se superposer le plus souvent.

De telles réactions, intéressant une biomolécule organique fondamentale "R : H", peuvent être représentées par les schémas suivants :



Il ne doit donc pas exister de différences essentielles, du moins sur le plan qualitatif, entre les effets direct et indirect des radiations, puisque, dans l'un et l'autre cas, l'évènement commun est la "radicalisation" de la biomolécule.

L'oxygène moléculaire favorise ces processus de radicalisation (effet oxygène) en supprimant certaines réactions de recombinaison.

En effet, l'électron éjecté par le rayonnement (réaction 1 et 2) peut induire la scission d'une molécule en libérant de l'hydrogène atomique :



sans cependant modifier le substrat, dont la forme anionique réagit spontanément avec un ion hydrogène du milieu :



L'atome libre d'hydrogène peut se recombinaison, soit avec un radical organique apparu par effet direct ou indirect :

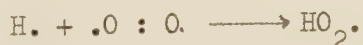


ce qui régénère la biomolécule initiale, soit avec un radical hydroxyle :

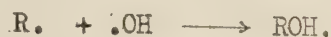


ce qui inhibe le mécanisme indirect.

En présence d'oxygène moléculaire, ces phénomènes de recombinaison sont supprimés partiellement, la molécule d'oxygène pouvant réagir avec les atomes d'hydrogène, compétitivement avec les radicaux libres, pour donner du superoxyde d'hydrogène :



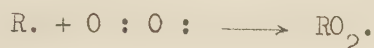
Le radical libre organique formé à partir de la biomolécule suit des destinées diverses : il peut être hydroxylé par un radical libre hydroxyle :



hydroperoxydé par le superoxyde d'hydrogène



peroxydé par l'oxygène moléculaire



Cette dernière réaction est le processus possible de l'effet différé, des peroxydes organiques pouvant amener, en présence d'oxygène, de lentes chaînes réactionnelles :



Essentiellement, deux hypothèses, non incompatibles d'ailleurs, ont été émises pour expliquer le mécanisme radioprotecteur des composés les mieux connus dans ce domaine, les dérivés sulfhydrylés (Mercaptoéthylamine (MEA), aminoéthylisothiouronium (AET) notamment). Il a été proposé, d'une part, que les dérivés thiols, facilement autoxydables, pouvaient diminuer la teneur en oxygène du milieu, ce qui aurait comme conséquence de réduire l'effet oxygène(16); certains travaux récents, cependant, fournissent plusieurs arguments à l'encontre d'un tel mécanisme.

D'autre part, on a pu penser que les dérivés thiols pouvaient réagir en inactivant, par transfert d'hydrogène, le radical libre hydroxyle ou les radicaux libres organiques résultant d'un effet direct ou indirect (18) :



Cette dernière hypothèse semble aujourd'hui la plus généralement admise.

Il est probable, de ce fait, que d'autres systèmes rédox, puissent agir dans ce sens. Or, parmi les différents systèmes rédox qu'offre la chimie, les dérivés minéraux sont souvent plus intéressants que les composés organiques, par leur nombre, leur stabilité et par la valeur de leur potentiel d'oxydo-réduction.

C'est ainsi que l'ion ferreux par exemple, tant "in vitro" que "in vivo", devrait pouvoir inactiver, soit les radicaux libres hydroxyles, soit les radicaux libres organiques :



Il a été montré, toutefois, que l'ion ferreux chélaté à l'éthylène-diamine tétracétique de sodium était doué de propriétés, non pas radioprotectrices, mais radiosensibilisantes (114). Ce phénomène s'explique facilement si l'on sait que le chélate ferreux est susceptible d'induire la formation spontanée, à partir de l'oxygène moléculaire, du radical libre hydroxyle (110). On a donc, dans ce cas, un effet synergique avec les radiations.

En revanche, d'autres ions ou chélates métalliques, qui n'induisent que faiblement, ou pas du tout, la formation du radical libre hydroxyle, devraient présenter, "in vitro" et "in vivo" des propriétés radioprotectrices.

C'est ce que nous nous sommes proposés d'étudier, tout particulièrement avec des ions métalliques, chélatés ou non.

- I -

GENERALITES

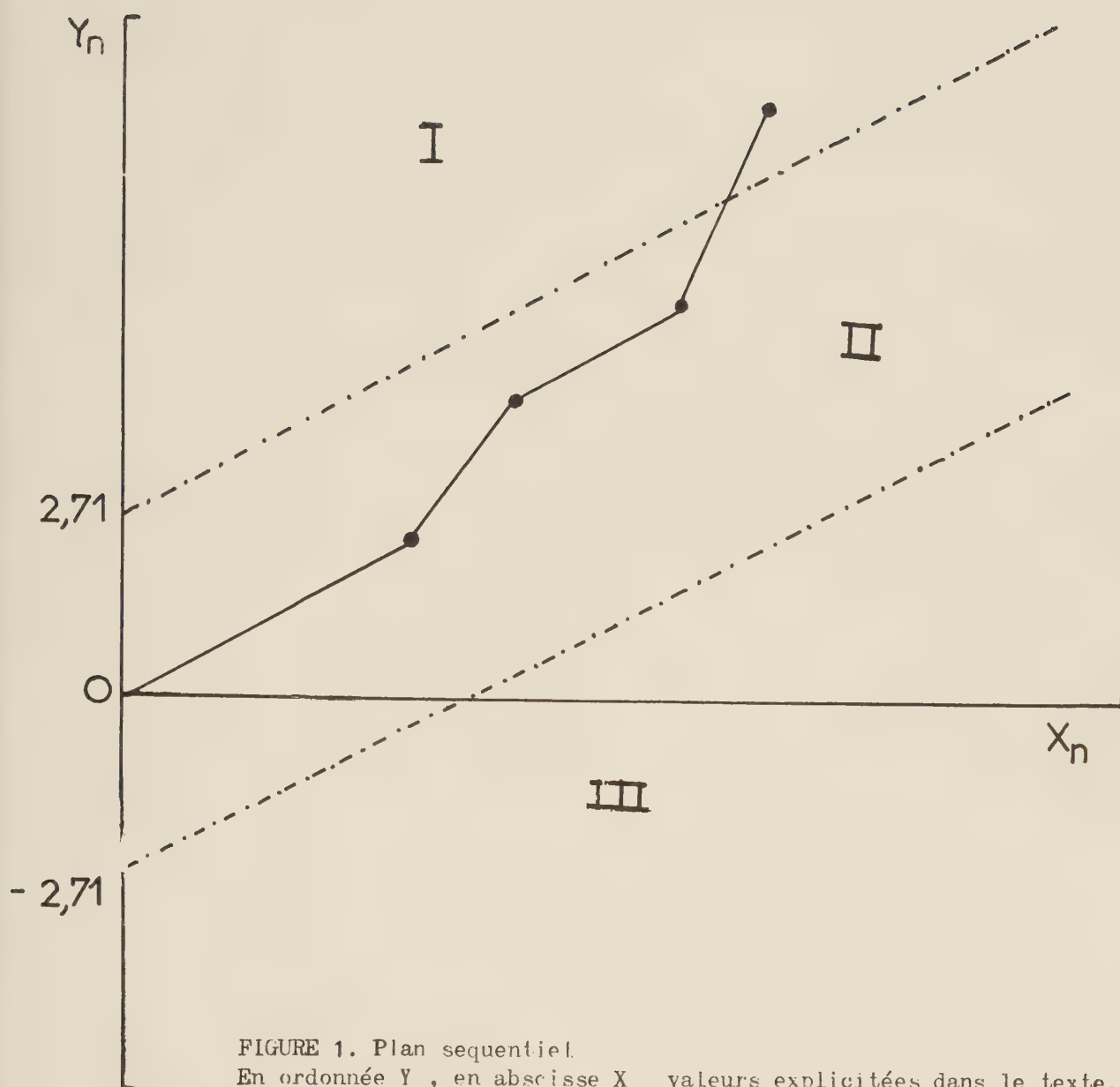


FIGURE 1. Plan séquentiel.

En ordonnée Y_n , en abscisse X_n valeurs explicitées dans le texte.

Plage I : zone significative pour la radioprotection

Plage III : zone significative pour la radiosensibilisation

Plage II : zone non significative.

I₁ - MOYENS D'ETUDES DE LA RADIOSENSIBILITE

Que l'irradiation soit externe ou interne, les effets radiobiologiques sont intimement liés à la dose, c'est-à-dire à la quantité de radiations absorbées. La dose maximale admissible est très difficile à déterminer car elle dépend d'un grand nombre de facteurs dont les plus importants sont :

- le type de rayonnement utilisé et le temps pendant lequel une même dose est distribuée;
- le volume et la nature du tissu irradié;
- l'âge des sujets soumis à l'irradiation.

Sans tenir compte des effets à long terme, somatiques et génétiques, * les doses létales minimales de rayons X ou gamma varient dans l'échelle animale de 175 à 3×10^5 roentgens, les micro-organismes étant les plus résistants à une irradiation globale **.

Ces doses expriment pour chaque espèce animale le seuil à partir duquel une irradiation devient nocive et permettent de définir, avec la "limite maximale admissible", la radiosensibilité ou la radiorésistance propre à l'espèce considérée.

- Tests d'action radioprotectrice ou sensibilisante :

Tenter de modifier par des agents chimiques la radiosensibilité n'a été concevable que le jour où il a été admis que l'action biologique des radiations ionisantes avait essentiellement comme "primum movens" la radiolyse de l'eau. Les recherches effectuées dans ce domaine sont empiriques pour certaines, mais pour la plupart d'entre elles basées sur les données théoriques de l'effet indirect :

* Dans ce domaine, il a été possible de calculer les risques que représentent les examens radiographiques et surtout radioscopiques subis au cours de la vie humaine (BUCHET, 32).

** Ces doses sont en général très faibles lorsqu'on les compare à celles qu'il est nécessaire d'atteindre pour observer des processus dégradatifs au sein de la matière inerte ($> 10^6$ r et jusqu'à 10^9 r).

les substances protectrices devront avant tout limiter la formation des radicaux libres ou les empêcher de réagir sur les substrats radiosensibles de l'organisme.

- Techniques "in vivo"

Ces études expérimentales ont suscité un très grand nombre de travaux et porté sur un matériel biologique très divers (cellules isolées, micro-organismes, plantes, animaux, notamment des rongeurs : souris, rats, lapins...). Nous nous limiterons dans cet exposé aux conditions expérimentales permettant d'étudier la radiosensibilité chez les souris, seule espèce animale que nous avons utilisée au cours de nos propres essais.

Il faut en principe disposer d'une race pure et effectuer une irradiation à une dose létale pour les témoins. On détermine en général préalablement aux essais de produits, les doses létales 50 ou 100 au 30ème jour (DL 50/30 ou DL 100/30) pour la souche utilisée.

Plusieurs radiobiologistes, BACQ, BONET-MAURY (16, 29), préconisent une irradiation mortelle pour tous les animaux témoins, estimant qu'au dessous de la DL 100 les variations sont telles qu'il faut opérer sur un grand nombre d'animaux pour obtenir des résultats statistiquement valables.

D'autres auteurs cependant s'en tiennent à la DL 50 déterminée sur 30 jours (87, 136, 142) et nous avons utilisé pour les essais rapportés dans ce travail la DL 70, qui permet d'apprécier à la fois un éventuel pouvoir radioprotecteur ou sensibilisant (99, 142) *.

Dans un lot de souris irradiées, la létalité déterminée sur 30 jours n'est que la résultante ultime d'effets toxiques complexes qui dépendent de très nombreux facteurs, extrinsèques, et intrinsèques, physiques et biologiques, qui ne semblent pas tous liés aux conditions expérimentales adoptées. Certes, la radiosensibilité dépend de la souche animale utilisée et de l'âge des sujets (1), des modes de vie auxquels ils sont soumis lors de l'irradiation et à l'animalerie ; la température, le régime alimentaire, le nombre d'animaux par cage, l'heure à laquelle l'irradiation a été faite sont autant de facteurs qui peuvent influencer sur les résultats (65, 66).

* Ces conditions expérimentales sont celles qui nous ont paru les plus valables pour des essais de "screening"

Les modalités d'irradiation, même s'il s'agit d'une dose unique et non fractionnée (61, 69), d'une même rayonnement, sont très importantes : si pour des débits compris entre 50 et 200 roentgens par minute on ne note aucune différence dans les résultats obtenus, il n'en est pas de même lorsqu'il s'agit de débits très faibles ou très élevés (37, 99, 122, 142) *.

On conçoit ainsi que les résultats rapportés dans la littérature ne soient pas toujours concordants : chez la souris Swiss, les DL 100/30 varient suivant les auteurs de 600 à 900 r (19, 88, 94).

Il importe donc d'effectuer ces essais avec une rigueur extrême, surtout lorsqu'ils sont étalés sur plusieurs mois comme l'ont été les nôtres.

Quoiqu'il en soit, les résultats obtenus chez la souris doivent être confirmés par des essais sur le chien ou le singe et il faut noter que, jusqu'ici, les radioprotecteurs actifs chez les rongeurs se sont avérés pour la plupart trop toxiques pour être expérimentés à des doses efficaces chez le grand animal.

- Techniques "in vitro"

Les techniques biologiques d'évaluation des substances protectrices sont les seules qui soient sûres; mais les difficultés d'une telle expérimentation, sa durée aussi, ont incité les chercheurs à mettre au point des "modèles" simplifiés permettant d'étudier in vitro l'activité des substances radioprotectrices.

Il en a déjà été proposé un certain nombre :

- l'acide polymétacrylique en solution aqueuse oxygénée est dégradé par les rayons X. Liée à l'action oxydative des radicaux libres, cette réaction, qu'il est possible de suivre par des mesures de viscosité, peut être inhibée par l'addition de composés radioprotecteurs (ALEXANDER, 3).
- on observe une élévation considérable de l'indice de peroxyde des lipides lorsque ceux-ci sont irradiés à des doses massives (120 000 r); en présence de composés radioprotecteurs ce processus est pratiquement annihilé (131).

* Les irradiations "flash" posent notamment un problème particulier qu'il n'y a pas lieu de discuter ici.

Ces "modèles" ne reproduisent pas les phénomènes qui se déroulent dans l'organisme vivant mais d'autres s'en rapprochent davantage.

- HAGEN (71) a démontré qu'il existait des relations entre l'action radioprotectrice de certains composés et leur aptitude à réactiver la catopsine inactivée par une exposition aux rayons X; une certaine corrélation a été trouvée aussi, sans doute par un mécanisme identique, entre la vitesse des réactions des thiols avec l'acide monoiodoacétique et leur activité protectrice (131).
- Récemment enfin, il a été proposé d'utiliser comme "modèle" un radical organique stable, le diphenyl-2, 2 picrylhydrazyle (39) dont la demi-vie en présence d'un radioprotecteur efficace est inférieure à une minute.

L'intérêt théorique de ces recherches est évident. Jusqu'ici malheureusement, il n'a pas été possible d'établir une corrélation complète entre les résultats obtenus "in vitro" sur des substrats "modèle" et les essais "in vivo".

I₂ - COMPOSES RADIOPROTECTEURS

De très nombreuses substances (plusieurs centaines) possèdent un pouvoir radioprotecteur chez les rongeurs (souris et rats) lorsqu'elles sont administrées quelque temps (5 à 15 minutes) avant l'irradiation. On n'en connaît encore aucune qui puisse s'opposer, après irradiation, de façon efficace au développement de la radiolésion (16, 46).

Il a paru bien difficile de classer de façon satisfaisante l'ensemble des radioprotecteurs connus tant leurs natures sont diverses. On peut cependant distinguer au moins deux groupes chimiques :

- des composés sulfhydrylés et soufrés;
- quelques dérivés aminés biologiques ou non.

I₂ - I - Composés sulfhydrylés et soufrés

Après les travaux de BARRON (22) sur la protection de systèmes enzymatiques par des composés sulfhydrylés, PATT (1949) a le premier utilisé ces substances pour la protection d'animaux (123).

La cystéine (124, 125, 126) s'est avérée efficace chez la souris à des doses comprises entre 930 et 1200 mg/Kg. La présence du groupement thiol paraît essentielle : la cystine, dérivé d'oxydation de la cystéine est inactive. La cystéamine, (mercaptoéthylamine ou MEA) produit de décarboxylation de la cystéine a été étudiée par BACQ (12) dès 1951. Ce composé est encore aujourd'hui l'un des meilleurs radioprotecteurs connus; il est actif chez la souris à des doses de 75 à 250 mg par Kg. Son dérivé d'oxydation, la cystamine (dérivé décarboxylé de la cystine) donne chez la souris, à dose identique, la même protection que la cystéamine (3, 15). D'autres dérivés de la cystéine sont également actifs : sous sa forme réduite, le glutathion, glutamyl-cystéyl-glycine (35, 36), assure une assez bonne protection lorsqu'il est administré chez les rongeurs à la dose de 800-1000 mg/Kg par voie intra-péritonéale ou sous-cutanée. Ces résultats ont été à l'ori-

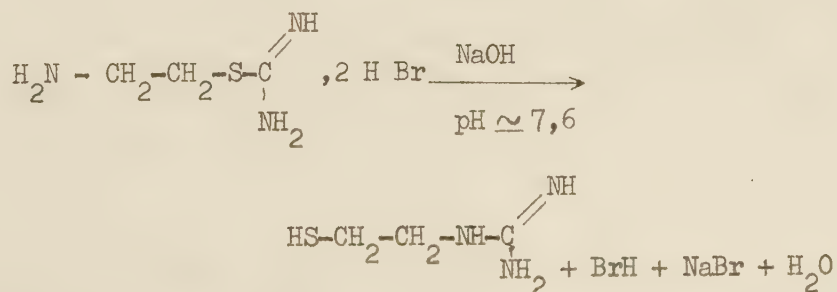
gine de nombreux travaux portant sur les aminothiols et les structures apparentées. Il a été démontré ainsi le rôle essentiel joué par les fonctions SH et NH_2 ; une substitution sur l'un ou l'autre de ces groupements a en général pour effet une diminution ou même la suppression de l'activité (3, 12, 50).

Certains dérivés soufrés se sont cependant avérés actifs : si le 2-3 dimercaptopropanol ou BAL est trop toxique pour être utilisé valablement, le BAL sulfonate de sodium, moins dangereux, peut être administré à doses plus fortes et possède une action protectrice certaine.

La distance qui sépare les deux groupements, qu'il s'agisse d'aminothiols ou de dithiols, paraît également essentielle; ils sont en position bêta dans presque tous les dérivés retenus jusqu'ici. Les homologues de la cystéamine sont pratiquement inefficaces; seule la 3-mercaptopropylamine est encore douée d'une certaine activité chez la souris.

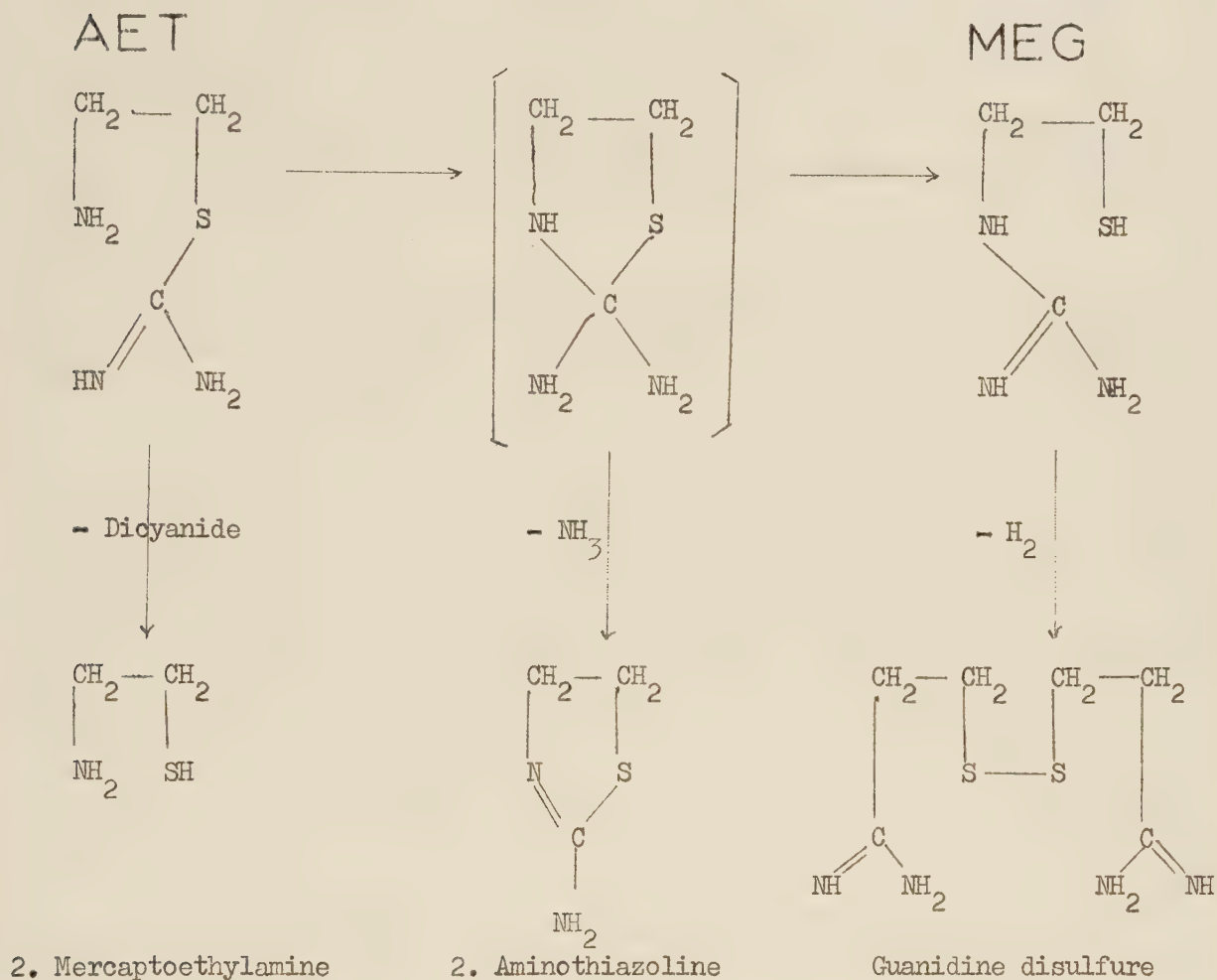
Comme le BAL, la thiourée est sans doute efficace (25, 97) mais trop toxique pour présenter un intérêt pratique en radioprotection. Cependant, on peut rattacher à la fois à cette structure et à celle de la cystéamine l'un des plus actifs parmi les radioprotecteurs actuellement connus, le bêta-aminoéthylisothiouronium ou AET. Administré à l'état de bromhydrate par voie parentérale à des doses de 200 à 250 mg/Kg, ce composé confère une bonne protection non seulement chez la souris mais aussi chez le singe (49, 134, 135).

Instable aux pH supérieurs à 7 et par suite dans les milieux biologiques, l'AET se transforme quantitativement dans l'organisme, en bêta-mercaptoéthylguanidine ou MEG. Le schéma suivant rend compte de cette isomérisation par transposition moléculaire.



C'est à la MEG que reviendrait en définitive l'activité radioprotectrice (HAGEN et BLUMENFELD, 70).

Ce processus de transguanidisation (50, 83) est sans doute plus complexe; il se forme très vraisemblablement des composés cycliques intermédiaires instables qui, suivant le pH du milieu, peuvent se transformer en bêta-aminoethylmercaptopan, bêta-mercaptopethylguanidine ou en 2-aminothiazoline :



Ces données expérimentales et théoriques ont orienté les recherches sur les composés guanidoalkyl mercaptans (131). L'allongement de la chaîne carbonée annihile les possibilités de transguanidisation et conduit à des composés inactifs. Seule la 3-mercaptopropylguanidine est encore douée d'une activité radioprotectrice.

De très nombreux composés soufrés ou aminothiols, aliphatiques ou hétérocycliques, ont été encore étudiés : notamment d'acide aminoethylthiosulfurique (81), des thiocarbamates (23), des dérivés possédant le noyau thiazole (3, 16) ou thiazolidine (24, 82, 83). Quelquesuns possèdent un certain pouvoir radioprotecteur, sans jamais égaler l'activité de l'AET.

I₂ - 2 - Dérivés aminés

La présence d'un groupement SH n'est pas non plus absolument indispensable; des composés aminés se sont avérés, également, doués d'un pouvoir protecteur. Parmi les amines biologiques, la 5-hydroxytryptamine ou sérotonine est la plus active, tout au moins chez les rongeurs (67, 101, 106); la réserpine efficace elle aussi dans ces conditions expérimentales (102) agirait en provoquant une décharge de sérotonine. L'action de la sérotonine peut être annulée par des composés qui bloquent ses effets biologiques en particulier l'hypoxie cellulaire dont elle est responsable.

C'est aussi à des effets pharmacologiques ou toxiques du même ordre qu'il faut rapporter les activités radioprotectrices rencontrées dans des séries chimiques les plus diverses (2, 9, 13, 55, 89, 95, 98, 121).

Le cyanure de sodium, le premier des dérivés expérimentés en radioprotection (8, 10, 11, 52, 76, 77), la p.aminopropiophénone (6, 137), des composés polyphénoliques (56, 57, 91) notamment des dérivés du pyrogallol, dont la tétra-hydroxyquinone, provoquent une réduction de la tension d'oxygène au niveau des tissus. La protection maximale est réalisée quand le taux d'oxygène dans la rate n'est que de 10% du taux normal.

La colchicine et ses dérivés, agiraient par leurs propriétés antimittotiques.

Certains composés flavoniques, la vitamine P, la coumarine, flavones et xanthocyanes..., agiraient comme transporteurs d'hydrogène, et auraient aussi un rôle dans la perméabilité capillaire.

L'activité des agents chélateurs tels que l'EDTA et les phosphates condensés peut être rapportée, semble-t-il, à une inhibition de metallo-enzymes indispensables aux chaînes d'oxydation cellulaires (14, 21, 44, 45, 132, 139, 143).

Si les séries les plus diverses ont déjà fait l'objet de nombreuses recherches expérimentales en chimie organique, il n'en est pas de même en chimie minérale. Cependant des résultats qui ne semblent pas dénués d'intérêt ont été publiés. Parmi les dérivés soufrés, une activité radioprotectrice a été reconnue au sulfure, hydrosulfite et sulfite (79, 130). Thiosulfates et sulfates seraient inactifs, alors que sélénites et sélénates sont doués d'une action protectrice

certaine (33, 80). Les nitrites et les nitrures, le protoxyde d'azote, le fluoro-acétate de sodium sont également radioprotecteurs chez la souris et cette action peut être sans doute rapportée à des effets méthémoglobinisants pour les premiers, au pouvoir anesthésique du gaz hilarant et à l'inhibition des métabolismes cellulaires par le fluoro-acétate (10, 17, 31, 42, 43, 62, 77, 141).

En ce qui concerne les cations, les données expérimentales sont également très limitées. Aucun effet protecteur n'a été reconnu aux alcalins et notamment au potassium (47); l'efficacité de calcium est très discutée (47, 60, 72, 129, 133, 145) et seul le magnésium présenterait une activité protectrice chez la souris (27, 107) et les micro-organismes (129). Les éléments de transition pour la plupart constituants des métallo-enzymes ont suscité un intérêt particulier, le chlorure de cobalt donné 5 à 8 jours avant irradiation aux rayons X, et 5 jours après, par doses fragmentées sub-letales, possède des propriétés protectrices chez la souris (117, 118). Des travaux récents ont montré que les ions cobaltiques protègent la dégradation de l'adénine sous l'effet des radiations ionisantes (4). HAZAMA et coll. (75) étudiant l'influence des ions paramagnétiques sur la radiosensibilité des graines ont montré que les ions Mn^{++} , Fe^{++} , Co^{++} , Ni^{++} et Cu^{++} ont une activité protectrice *.

D'autres travaux ont trait à l'activité protectrice éventuelle du cuivre à l'état cuivreux (138), du manganèse (5), de l'ammonium (19), du mercure mercurique (29, 92), des sels de germanium (7) et de quelques terres rares (128).

Malgré leur intérêt, ces recherches sont trop fragmentaires pour qu'il soit possible d'en tirer des conclusions définitives.

* Il a été montré aussi que les sels ferreux et ferriques ont une action protectrice sur la trypsine; mais dans des conditions très particulières, en l'absence d'eau (34).

I₃ - RADIOSENSIBILISANTS

C'est un domaine comparativement peu étudié mais qui n'en présente pas moins un grand intérêt à la fois théorique et pratique, notamment en thérapeutique anticancéreuse, s'il est possible de concevoir une sensibilisation élective des cellules malignes.

Trois types de radiosensibilisants ont été expérimentés jusqu'ici avec certains succès : l'oxygène, des peroxydes et des dérivés naphtoquinoniques.

Nous avons déjà souligné l'importance de l'effet oxygène, considéré comme une des bases de la théorie de l'action indirecte des radiations ionisantes, et le rôle de l'hypoxie cellulaire en radioprotection.

Une hyperoxygénation, réalisée au cours de l'irradiation, diminue notablement la radiorésistance (38, 68, 72). Les peroxydes, et notamment le peroxyde d'hydrogène, ont une activité du même ordre (78, 140). Malheureusement ces effets sensibilisants intéressent tout l'organisme.

Ce sont surtout les travaux de MITCHELL et de son école (109) qui ont mis en évidence, "in vitro" et "in vivo", le pouvoir radiosensibilisant de composés quinoniques. La méthyl-2, naphtoquinone, vitamine K synthétique, et des esters phosphoriques naphtoquinoniques ont déjà conduit à des résultats intéressants : ces dérivés permettraient une absorption beaucoup plus sélective du rayonnement X ou gamma par le tissu tumoral.

Parmi les chélates autoxydables, le chélate ferreux à l'acide éthylènediamine tétracétique a fait l'objet d'une étude particulière (111, 114, 115). Ses propriétés radiosensibilisantes chez la souris doivent être rapportées, semble-t-il à une radicalisation de biomolécules essentielles.

Dans des conditions expérimentales variées, une action radiosensibili-

santé a été également reconnue à des structures chimiques très diverses : les analogues des amino-acides soufrés radioprotecteurs, la β -homocystéine et l'isocystéine (19), la pénicillamine (103), le méthylandrostonediol et le mercaptoéthanol (86), la co-carboxylase (100), la riboflavine, l' α -alanine, les α -alkylamines (96)... Des sels minéraux aussi (113), les chlorures de calcium * (20), de cobalt * (116), de baryum (92), les sels d'yttrium et de lanthane (74), le lactate de lithium (92), les sels de cuivre et de zinc (30)...

Sans porter pour autant un jugement de valeur sur les résultats publiés, il faut noter que l'augmentation de la létalité est un test bien imprécis d'une activité radiosensibilisante. Toute synergie d'effets toxiques doit être interprétée avec beaucoup de prudence.

* Considéré comme radioprotecteur par d'autres auteurs.

I₄ - LES MECANISMES THEORIQUES DE LA RADIOPROTECTION ET

DE LA RADIOSENSIBILISATION

Devant le nombre des agents susceptibles de modifier la radiosensibilité et surtout la diversité des structures chimiques auxquelles on peut les rattacher, comment envisager une théorie unique qui tienne compte de toutes les données expérimentales réunies jusqu'ici? Les points suivants méritent cependant d'être soulignés :

- 1) Radioprotecteurs ou radiosensibilisants doivent être présents dans l'organisme au moment de l'irradiation ce qui semble impliquer qu'ils agissent uniquement sur les stades initiaux de la radiolésion.
- 2) Pour la plupart, les radioprotecteurs sont des composés toxiques, ou qui doivent être injectés à des doses toxiques, pour être efficaces. Une toxicité cellulaire n'est sans doute pas suffisante pour qu'un corps présente des propriétés radioprotectrices. Est-elle nécessaire ?

I₄ - 1 - Radiosensibilisants

Nous avons déjà rappelé l'importance de "l'effet oxygène" pour la formation du peroxyde d'hydrogène et des radicaux libres hydroxyles. C'est sans doute à un mécanisme de cet ordre qu'il faut relier les effets des peroxydes sensibilisants (LOISELEUR, 105) et des chélates ferreux auto-oxydables tels que l'EDTA ferreux (111). Il semble plus difficile pour l'instant d'interpréter les résultats obtenus par MITCHELL et son école, avec des dérivés naphtoquinoniques apparentés aux vitamines K.

I₄ - 2 - Radioprotecteurs

a) Hypoxie cellulaire et potentiel d'oxydo-réduction : LACASSAGNE (90) a montré le premier, que l'anoxie diminuait la mortalité à l'irradiation : des

rats ayant reçu 800 r dans une atmosphère de 5 % d'oxygène et 95 % d'azote, étaient encore vivants 30 jours après irradiation alors que tous les témoins avaient succombé. Quel que soit le moyen employé pour provoquer l'hypoxie cellulaire et le test biologique utilisé on obtient ainsi une augmentation de la radio-résistance. Chez les mammifères, l'anoxie peut résulter d'un certain nombre de mécanismes et une grande variété de produits chimiques peut protéger contre les radiations, en provoquant une hypoxie au niveau des points radiosensibles. Le cyanure de sodium, des agents méthémoglobinisants, s'opposent au transfert d'oxygène au niveau de la cellule; de nombreuses amines physiologiquement actives provoquent une vaso-constriction artériolaire empêchant le sang oxygéné d'atteindre les tissus. Mais le degré d'anoxie qu'il faut atteindre pour qu'il y ait protection est relativement élevé; les doses efficaces de ces produits anoxémisants sont également toxiques et l'anoxie ne peut être maintenue que pendant de courtes périodes. De nombreux radioprotecteurs sont également de bons composés réducteurs; c'est le cas de composés sulfhydrylés comme la cystéine et la cystéamine. Il est tentant de penser que ces substances agissent simplement en réduisant la quantité d'oxygène dissous dans la cellule au moment de l'irradiation (85). Nous avons déjà signalé que les polyphénols et notamment certains dérivés du pyrogallol, qui ont une grande affinité pour l'oxygène moléculaire, confèrent à la souris une protection efficace contre une dose létale de rayons X. BACQ et ses collaborateurs (1955, 16) ont montré que la cystamine réduit la pression partielle d'oxygène chez le rat adulte.

Il existe cependant des composés réducteurs qui ne possèdent pas pour autant d'activité radioprotectrice (126). Peut-être la radiosensibilité est-elle en relation moins avec la quantité d'oxygène cellulaire disponible qu'avec son utilisation par la cellule en général.

b) Radioprotection compétitive :

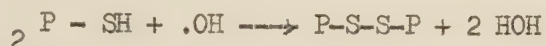
Cette théorie admet qu'il peut y avoir une compétition entre les radicaux libres formés pendant l'irradiation, entre un composé radioprotecteur et les constituants cellulaires vitaux radiosensibles. Cette hypothèse exprimée pour la première fois par DALE (46) a été reprise ensuite par ALEXANDER, BACQ et collaborateurs (3, 18).

L'inhibition des radicaux libres par le radioprotecteur peut résulter soit de processus anti-oxydants par réaction avec des radicaux libres inorgani-

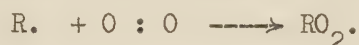
ques (le radical libre hydroxyle en particulier) issus de la radiolyse de l'eau ou avec des peroxydes organiques, soit de processus restaurateurs par réaction avec des radicaux libres organiques formés par scission homolytique des biomolécules cibles lors d'actions, directes ou indirectes, des radiations.

- Effet anti-oxydant :

Les agents protecteurs peuvent réagir avec les radicaux libres $\text{HO}\cdot$ et $\text{HO}_2\cdot$, les empêchant d'atteindre les points radiosensibles de la cellule. Le schéma suivant a été proposé :



Réaction directe avec l'oxygène : le radical libre organique formé à partir de la bio-molécule suit des destinées diverses; il peut être hydroxylé, hydroperoxydé ou peroxydé par l'oxygène moléculaire :



Ce peroxyde peut amener en présence d'oxygène de lentes chaînes réactionnelles :

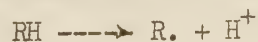


C'est au cours de ce processus réactionnel que le radioprotecteur (P-SH) peut intervenir en inhibant cette chaîne d'oxydation :



- Effet restaurateur :

A la suite de l'irradiation par effet direct ou indirect on peut concevoir une modification de la bio-molécule (RH) conduisant à des radicaux libres:



Mais ces molécules ne sont pas toutes irréversiblement endommagées; les radicaux libres formés peuvent réagir avec un protecteur (P-H) de façon à être restaurés.

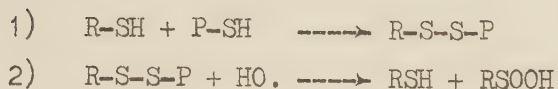


L'existence d'un tel mécanisme a été démontré "in vitro" (112) sur des substrats pyrimidiques.

c) Théorie de la combinaison :

Elle s'appuie sur le fait qu'il semble y avoir une corrélation entre le pouvoir protecteur d'un thiol et sa capacité à former des liaisons disulfures (22). Les groupements SH radiosensibles des protéines vitales seraient ainsi masqués pendant l'irradiation dans les molécules mixtes à pont -S-S- .

Ce mécanisme proposé par ELDJARN et PIHL (58, 59) peut être schématisé ainsi :



L'action protectrice jouerait ainsi à la fois sur l'effet direct et indirect des rayonnements.

A l'encontre de ce mode d'action, il faut noter toutefois que les travaux récents de LANGE et Coll. (93) n'ont pas confirmé l'existence d'une sensibilité particulière des systèmes enzymatiques à groupements sulfhydrylés.

d) Radioprotection et chélation

Certains composés utilisés comme chélateurs sont doués d'une activité radioprotectrice; la cystéamine, le glutathion, les dithiocarbamates sont également des agents chélatants et cette propriété a été évoquée pour tenter d'expliquer leur mode d'action.

e) Radioprotection et effets anti-mitotiques

Pour certains auteurs, l'activité de composés telle que la cystéine serait liée à son pouvoir anti-mitotique. Il est de fait que des substances anti-mitotiques, comme la colchicine, ont un pouvoir radioprotecteur, mais là encore les généralisations ne paraissent pas possibles.

Si l'on confronte maintenant les mécanismes inducteurs de la radiolésion et les modes d'action proposés pour les radioprotecteurs connus, on peut concevoir qu'à chaque stade de l'effet biologique des radiations ionisantes puisse correspondre un certain type d'action protectrice spécifique de l'effet ou de l'étape considérée. Nous sommes encore loin en pratique d'un tel résultat; en fait, tout donne à penser que les radioprotecteurs actuellement connus agissent simultanément par plusieurs des mécanismes que nous venons d'évoquer.

Dans le cas de la cystéamine notamment, il est possible d'envisager à la fois :

- un phénomène de compétition vis-à-vis des radicaux libres formés par radiolyse de l'eau intra-cellulaire ;
 - une réduction de la pression partielle de l'oxygène moléculaire au niveau de la cellule ;
 - une action hypotensive ;
 - une combinaison sous la forme de composés à pont disulfure ;
 - une activité chélatrice ;
 - un effet anti-mitotique.
-

- II -

TRAVAIL PERSONNEL

II₁ - TECHNIQUE EXPERIMENTALE

II₁ - 1 - Moyens mis en oeuvre

A. Les sels métalliques

Ils ont le plus souvent été employés sous forme de chlorure, excepté dans le cas où le sel correspondant est insoluble ou ne se trouve pas à l'état pur sous sa forme commerciale.

Les sels métalliques utilisés sont les suivants :

Produits Fluka - Chlorures de : Scandium $\text{ScCl}_3, 6\text{H}_2\text{O}$ (P.M. 259, 43), Indium InCl_3 (P.M. 221, 19), Lanthane $\text{LaCl}_3, 7\text{H}_2\text{O}$ (P.M. 371, 40), Yttrium $\text{YCl}_3, 6\text{H}_2\text{O}$ (P.M. 303, 39), Gallium GaCl_3 (P.M. 176, 09), Iridium $\text{H}_2\text{IrCl}_6, 6\text{H}_2\text{O}$ (P.M. 515, 05), Beryllium BeCl_2 (P.M. 79, 92) ; Sulfate de Vanadyl $\text{VOSO}_4, 5\text{H}_2\text{O}$ (P.M. 253, 10).

Produits Merck - Chlorures de : Cérium $\text{CeCl}_3, 7\text{H}_2\text{O}$ (372, 61), Palladium PdCl_2 (P.M. 177, 31), Césium CsCl (P.M. 168, 37), Oxychlorure de Zirconium $\text{ZrOCl}_2, 8\text{H}_2\text{O}$ (P.M. 322, 26), Sulfate ferreux $\text{FeSO}_4, 7\text{H}_2\text{O}$ (P.M. 278, 03).

Produits Prolabo - Chlorures de : Thorium $\text{ThCl}_4, 8\text{H}_2\text{O}$ (P.M. 518, 07), Etain Stannique $\text{SnCl}_4, 5\text{H}_2\text{O}$ (P.M. 360, 5), Or jaune $\text{AuCl}_3, \text{ClNa}, 2\text{H}_2\text{O}$ (P.M. 303, 60), Platine $\text{H}_2\text{PtCl}_6, 6\text{H}_2\text{O}$ (P.M. 518, 08), Mercure HgCl_2 (P.M. 271, 52), Etain Stanneux $\text{SnCl}_2, 2\text{H}_2\text{O}$ (P.M. 225, 65), Strontium $\text{SrCl}_2, 6\text{H}_2\text{O}$ (P.M. 266, 90), Baryum $\text{BaCl}_2, 2\text{H}_2\text{O}$ (P.M. 241, 30), Calcium $\text{CaCl}_2, 2\text{H}_2\text{O}$ (P.M. 147, 03), Magnésium $\text{MgCl}_2, 6\text{H}_2\text{O}$ (P.M. 203, 33), Thallium TlCl (P.M. 239, 90), Lithium LiCl (P.M. 42, 80), Sodium NaCl (P.M. 58, 45), Potassium KCl (P.M. 74, 55), Ammonium NH_4Cl (P.M. 53, 50), Rubidium RbCl (P.M. 120, 94), Acide chlorhydrique HCl (P.M. 36, 46).

Sulfates de : Cadmium $3\text{CdSO}_4, 8\text{H}_2\text{O}$ (P.M. 769, 56), Cuivre $\text{CuSO}_4, 5\text{H}_2\text{O}$ (P.M. 249, 69), Fer (ferrique) $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ (P.M. 399, 87), Manganèse $\text{MnSO}_4, \text{H}_2\text{O}$ (P.M. 169, 01), Zinc $\text{ZnSO}_4, 7\text{H}_2\text{O}$ (P.M. 287, 56), Nickel $\text{NiSO}_4, 7\text{H}_2\text{O}$ (P.M. 280, 87),

Aluminium $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$ (P.M. 666, 41), Chrome $\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (P.M. 266, 48), Uranyl $\text{UO}_2\text{Cl}_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ (P.M. 359, 00); Acétate de Plomb $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (P.M. 379, 35).

Produit OSI : Sulfate de Cobalt $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (P.M. 281, 12).

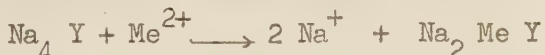
Produit L.B.B. * : Nitrate d'Argent AgNO_3 (P.M. 169, 89).

B. Les chélates

Notre expérimentation a porté exclusivement sur les chélates préparés à partir de l'acide éthylènediamine tétracétique (EDTA) (chélate 1 : 1).

L'acide éthylènediamine tétracétique a été utilisé sous la forme de son sel disodique ou tétrasodique : acide éthylènediamine tétracétique sel disodique (L.B.B. *) $\text{Na}_2\text{H}_{14}\text{C}_{10}\text{N}_2\text{O}_8 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (P.M. 372, 10)**acide éthylènediamine tétracétique sel tétrasodique (Fluka) $\text{Na}_4\text{H}_{12}\text{C}_{10}\text{N}_2\text{O}_8$ (P.M. 380, 20).

Les chélates métalliques des cations bivalents ont été préparés par dissolution dans l'eau de quantités équimoléculaires de sel métallique et de Na_4EDTA , conformément au schéma réactionnel :



Les chélates des cations trivalents ont été préparés par dissolution de quantités nécessaires de sel métallique et de Na_4EDTA pour obéir à l'équation suivante :



Les chélates calcique, ferreux et chromique, ont nécessité des préparations particulières.

Le chélate calcique a été obtenu en solution aqueuse par action de Na_2EDTA sur du carbonate de calcium (Carbonate de Calcium R.P. Prolabo, CaCO_3 P.M. 100, 09) conformément à la réaction :



* Laboratoires du Bois de Boulogne, 33 Rue Voltaire, Puteaux (Seine).

** Abréviations utilisées : Acide éthylènediamine tétracétique sel disodique $\text{Na}_2\text{H}_2\text{Y}$ ou Na_2EDTA .

Acide éthylènediamine tétracétique sel tétrasodique Na_4Y ou Na_4EDTA .

Le chélate ferreux, très autoxydable, a du être préparé sous atmosphère inerte. Le mode opératoire est décrit ci-dessous :

La solution aqueuse de Na_4EDTA étant désoxygénée par un barbotage d'azote, recouvrir la surface du liquide d'une couche d'huile de paraffine et placer le récipient sous une cloche à vide. Après avoir chassé l'oxygène restant par un vide poussé, remplir la cloche d'azote et ajouter rapidement le sulfate ferreux dont la dissolution s'effectue sous atmosphère inerte grâce à un brassage par agitation magnétique. La solution est alors conditionnée en ampoules scellées sous atmosphère d'azote. Ces conditions expérimentales permettent d'obtenir une solution stable du chélate ferreux qui doit demeurer incolore.

Le chélate chromique a été obtenu de la façon suivante : ajouter successivement dans une solution aqueuse d' EDTA Na_2 du carbonate acide de sodium (quantité bimoléculaire) et le chlorure de chrome (quantité équimoléculaire par rapport à l' EDTA). La chélation s'effectuant lentement, attendre 24 heures avant l'emploi de la solution.

C. L'animal

Notre étude biologique a été limitée à la souris. Tout au long de notre expérimentation nous nous sommes efforcés d'utiliser une population animale homogène. C'est dans ce but que les souris employées répondent à quatre critères :

- La souche : Souris Swiss Albinos
- Le sexe : seuls les mâles ont été utilisés
- L'âge : souris âgées de 2 à 4 mois
- Le poids : tous les animaux d'expérience ont un poids voisin de 20 ± 2 g.

Les souris de souche Swiss (Albinos) sont fournies par un seul élevage ("La Chaumine". Maintenon. Eure et Loire).

Dès leur arrivée au laboratoire elles sont groupées par lots de 10 dans des cages métalliques. Tous les animaux d'expérience ont reçu à volonté une alimentation équilibrée * et ont été maintenus à une température de 22°C (± 2).

* "Provende Ratigène" : Société de chimie organique et biologique. Commentry (Allier)

Chaque lot expérimental a fait l'objet d'une surveillance quotidienne en ce qui concerne le poids des souris et la létalité.

Pour chaque groupe de 100 souris, reçu du Centre l'Elevage, un lot de 10 souris a été conservé comme témoin de façon à pouvoir éliminer de nos résultats les essais au cours desquels une mortalité "naturelle" se serait manifestée

D. Source de rayonnement

Les irradiations ont été pratiquées au moyen d'une source de rayons gamma (Cobalt 60).

Cette source de rayonnement fonctionne au Centre Lyonnais d'Applications Atomiques à DAGNEUX (Ain) *.

Nous avons au cours de notre expérimentation utilisé 16 crayons de Cobalt 60 de 500 curies chacun, soit un total de 8 000 curies.

Ces sources se trouvent dans une piscine, placées sur un plateau amovible et disposées de telle sorte que l'on obtienne un champ uniforme dans la zone d'irradiation.

La dosimétrie a été effectuée par une méthode physique, elle-même contrôlée par une méthode chimique :

a) méthode physique

L'appareil servant à la mesure de l'intensité de dose de rayonnement émis provient de la "Victoreen Instrument Company": c'est le "Radocan 575". Cet appareil indique par lecture directe, l'intensité du rayonnement en Roentgen/minute. De plus il est muni d'un intégrateur à 3 décades, qui fonctionne en décompteur.

Ce dosimètre comprend :

- Un coffret de commande placé hors de la salle d'irradiation. Il contient le transformateur, le cadran gradué en roentgen/minute, les amplificateurs électroniques, l'appareillage de commande, le bouton de sensibilité avec 4 positions (arrêt et 3 sensibilités) ces 3 sensibilités en utilisant la sonde 605, sont : 10, 30, 100 roentgens/minute.

* La chambre d'irradiation a un volume de 150m³. Elle contient actuellement 50000 curies de cobalt 60.

- La sonde ou jauge d'ionisation qu'il faut placer au point où l'on veut connaître l'intensité du rayonnement. La sonde utilisée est le modèle 605 dont la précision est de $\pm 5\%$.

Le coffret et la sonde sont reliés par un fil conducteur.

b) méthode chimique

Elle a été réalisée au moyen du dosimètre de FRICKE (63), dont le principe est basé sur l'oxydation du sulfate ferreux, les ions ferriques formés étant dosés par spectrophotométrie ($G_{Fe^{3+}} = 15,6$).

Les résultats obtenus par les 2 techniques ont été concordants, compte tenu de leur précision respective. Aussi, dans nos essais, nous avons utilisé le dosimètre de Victoreen en conservant une géométrie des sources identique.

II₁ - 2 - Protocole expérimental

A. L'injection

Les solutions de chacun des produits ont été préparées au cinquième, au demi, et au tiers, de la $DL_{50/30}$ déterminée dans des travaux antérieurs (26, 41) de telle sorte que le volume injecté soit dans tous les cas égal à $0,5 \text{ cm}^3$ par souris.

Les solutions sont administrées par voie intrapéritonéale, selon la technique décrite par DUMAS (54) :

- groupes de contrôle, $0,5 \text{ cm}^3$ par souris de soluté stérile isotonique de chlorure de sodium.
- groupes d'essais $0,5 \text{ cm}^3$ de la solution à étudier.

La seringue utilisée, est une seringue de précision (SOCOREX) d'une capacité de 1 ml graduée en centièmes.

Les produits ont été injectés 20 à 30 minutes avant l'irradiation. Nous avons également pratiqué quelques essais au cours desquels l'injection a été effectuée 20 à 30 minutes après l'irradiation.

B. L'irradiation

Des essais préalables nous ont permis de préciser la sensibilité de la souche animale et de déterminer la DL_{50} et la DL_{100} dans les conditions expérimentales adoptées, le temps d'irradiation étant constant et seule la dose étant variable de 100 à 607 rads (30 minutes).

Au cours des essais proprement dits les souris sont irradiées par groupe de cinq lots, chaque lot se subdivisant en deux sous groupes :

- le premier de cinq souris contrôles
- le second de cinq souris traitées par le produit expérimenté.

Pour chaque cation ou chélate étudié nous avons procédé au moins à quatre essais (40 souris au minimum par essai) ; afin de pouvoir juger des effets radioprotecteurs ou radiosensibilisants éventuels, la dose choisie se situe entre la DL_{50} et la DL_{100} ; elle a été pour tous les essais de 343 rads en 30 minutes (11,4 rads/minute) et correspond sensiblement à la $DL_{70/30}$ *.

Les animaux sont maintenus dans des cages en "Plexiglass", percées de trous pour permettre une aération suffisante et recouvertes d'un couvercle de même matière pour homogénéiser la dose **.

II, - 3 - Planification des Expériences

Ainsi que nous l'avons déjà rappelé, on utilise classiquement comme critère de radiosensibilité des organismes entiers la dose létale 50 au trentième jour ($DL_{50/30}$), c'est-à-dire, la dose mortelle pour 50 p. 100 des animaux d'un même lot au trentième jour (136).

a) Dose létale 50 pour 100

Nous ne reviendrons pas sur le principe de la mesure des DL_{50} que nous avons évaluées par la méthode graphique de MILLER et TAINTER (108), à l'aide du papier "log-Probabilité" de BONET-MAURY (28) ***.

* Cette dose peut paraître faible, nous la discuterons plus loin; en fait, elle est du même ordre que celles indiquées par certains auteurs dans la littérature (94, 104).

** Cages parallélépipédiques de 16 x 16 x 5 cm partagées en dix compartiments.

*** JOUAN, PARIS.

Ce procédé présente les avantages d'une mise en oeuvre facile et d'une précision largement suffisante (53).

Les doses portées en abscisse sur une échelle logarithmique, les pourcentages de mortalité sont portés en ordonnée sur une échelle en probit.

Ecart type approché : (SE)

Il est déterminé aisément grâce à la formule $SE = \frac{2 S}{\sqrt{2 N'}}$ dans laquelle 2 S représente l'intervalle des doses administrées entre les pourcentages 16 et 84 %, N' le nombre d'animaux utilisés dans cet intervalle.*.

b) Technique de "triage" **.

Au cours de la planification des expériences, nous avons tout d'abord été amenés à rechercher une technique de "screening" suffisamment sûre, permettant, à moindres frais, d'expérimenter un nombre important de composés métalliques. C'est l'analyse séquentielle qui a été choisie.

Cette étude repose sur les bases statistiques de l'analyse séquentielle de WALD (144). Ce test applicable pour de nombreux types de recherches a été appliqué à l'étude des radioprotecteurs par KIMBALL et BURNETT ('84).

Pour toute technique séquentielle il faut admettre tout d'abord un certain risque d'erreur, dont il faudra tenir compte dans les calculs (choix des coefficients).

On a choisi comme risque d'erreur de première espèce (risque de rejeter une hypothèse vraie) et de deuxième espèce (risque d'accepter une hypothèse fausse) un seuil de 10 p. 100, c'est-à-dire que l'on a pris pour risque d'accepter un produit inefficace 10 fois sur cent et de rejeter un produit efficace 10 fois sur cent. Nous avons également estimé que le produit sera accepté si la survie des animaux traités passe à 40 % après irradiation, par rapport à une survie de 50 % chez les animaux de contrôle (dans nos conditions expérimentales ce délai est de 13 jours (± 2)).

* Cette formule a été proposée par LITCHFIELD et FERTIG. Sa validité a déjà été discutée dans un travail antérieur (41).

** De tels essais sont couramment désignés par le terme anglo-saxon de "Screening"; nous avons cependant pensé qu'il avait son équivalent en Français.

A partir de ces données on peut déterminer les constantes a , a' et b qui sont données par les formules :

$$a = \frac{\log \frac{1 - \beta}{\alpha}}{\log \frac{r_2}{r_1}} ; \quad a' = \frac{\log \frac{1 - \alpha}{\beta}}{\log \frac{r_2}{r_1}} ; \quad b = \frac{\log \frac{1 + r_2}{1 + r_1}}{\log \frac{r_2}{r_1}}$$

où r_1 et r_2 dans nos conditions sont respectivement égaux à $2/3$ et $3/2$ et α et β sont les risques maximums d'erreurs de première et deuxième espèce, dans notre cas $\alpha = \beta = 0,10$.

$$a = 2,71$$

$$a' = 2,71$$

$$\text{et } b = 0,5$$

Le prélèvement se fait par étapes comprenant chacune deux sous-groupes de 5 animaux :

- Dans le premier, qui sert de contrôle, les animaux reçoivent une injection de soluté physiologique.

- Dans le second, les animaux reçoivent une injection du composé métallique expérimenté. L'un et l'autre sont irradiés, en même temps, dans des conditions identiques.

Si E_n = Nombre de survivants dans le $n^{\text{ième}}$ sous-groupe traité après 13 jours.

C_n = Nombre de survivants dans le $n^{\text{ième}}$ sous-groupe contrôlé après 13 jours.

m = Nombre d'animaux exposés dans chaque sous-groupe.

Après chaque essai les valeurs suivantes sont calculées :

$$y_n = E_n - \frac{E_n C_n}{m} \quad \text{et} \quad x_n = E_n + C_n - \frac{2 E_n C_n}{m}$$

De même, à chaque étape, on calcule les valeurs cumulées suivantes :

$$Y_n = y_1 + y_2 + \dots + y_n$$

$$X_n = x_1 + x_2 + \dots + x_n$$

où n représente le nombre d'étapes.

1. Si $Y_n > (a + b X_n)$ l'essai est arrêté et le composé est jugé radioprotecteur.
2. Si $Y_n < (a' + b X_n)$ l'essai est arrêté et le composé est jugé radiosensibilisant.
3. Si $(a' + b X_n) \leq Y_n \leq (a + b X_n)$ l'essai est continué et l'étape $(n + 1)$ est exécutée autant de fois qu'il sera jugé nécessaire (4 au minimum) pour obtenir l'un des résultats précédents.

Dans le cas présent où $b = 0,5$ une modification est apportée dans les inégalités qui deviennent :

1. Si $\sum(E_n - C_n) > 2a$ l'essai est arrêté et le composé est jugé radioprotecteur.
2. Si $\sum(E_n - C_n) < 2a'$ l'essai est arrêté et le composé est jugé radiosensibilisant.
3. Si $2a' \leq \sum(E_n - C_n) \leq 2a$ le test est arrêté et le composé est jugé inefficace.

On peut interpréter les résultats obtenus dans un tel essai par un graphique : on porte a et a' sur l'axe des ordonnées et on trace à partir de ces deux points deux droites de pente égale à b . Pour chaque étape on porte les valeurs de X_n et Y_n . On considère que l'expérience est probante lorsque les points sortent de la plage limitée par les deux droites (48) comme le montre la figure n° 1.

Nous avons également tenté d'apprécier l'effet radioprotecteur suivant une variante de la technique précédente proposée par GART (64). Cette modification qui nous a semblé particulièrement valable pour un test de prospection, réside dans le fait qu'au lieu de considérer le nombre de souris survivantes dans le groupe de contrôle et le groupe expérimental au bout d'un nombre de jours arbitraire, il est décidé d'arrêter l'expérience lorsque la létalité se trouve être médiane dans le groupe de contrôle, c'est-à-dire lorsqu'il y a $[(m+1)/2]$ souris mortes (dans nos essais m étant égal à 5, la létalité médiane est de 3 souris). En prenant les mêmes marges d'erreurs que dans la technique précédente on a les paramètres suivants :

$m = 5$ (nombre d'animaux dans chaque sous-groupe), P_{EL} et P_{EU} * égaux respectivement à 0,4 et 0,6 et comme probabilité $\alpha = \beta = 0,10$ en se rapportant à un tableau donné par GART on obtient les valeurs de $Z(E_n)$, E_n étant le nombre de survivants dans le groupe expérimental lorsque la mortalité médiane est de 3 dans le sous-groupe contrôle. On calcule les valeurs de $\sum Z(E_n)$ et

- Si $\sum Z(E_n) > + 0,9542$ le test est arrêté et le composé est jugé radioprotecteur.

- Si $\sum Z(E_n) < - 0,9542$ le test est arrêté et le composé est jugé radiosensibilisant.

- Si $- 0,9542 \leq \sum Z(E_n) \leq + 0,9542$ le composé est inefficace et les essais sont arrêtés.

En dehors de ces deux techniques d'analyse séquentielle nous avons également tenu compte de deux données expérimentales supplémentaires, classiques dans de tels essais :

- le pourcentage de survie des animaux traités par rapport aux témoins sur l'ensemble de nos quatre essais successifs. D'après la plupart des auteurs une augmentation de pourcentage de survie de 10 % est déjà significative.

- les variations du temps de survie médian des souris traitées comparativement à celui des animaux de contrôle (TS_{50}). Un composé est jugé radioprotecteur si le TS_{50} est augmenté de 5 jours ou plus, radiosensibilisant pour une diminution de 5 jours et inefficace lorsque les variations sont comprises entre ± 5 jours (51,104)

* P_{EL} et P_{EU} sont deux nombres choisis de telle sorte que P_{EL} soit inférieur à P_{EU} et qui délimitent trois zones dans lesquelles peut se situer l'événement de probabilité P_E qui représente une souris traitée, sa probabilité de survie au temps médian de la mortalité dans la population contrôle, c'est-à-dire un temps où sa probabilité de survie est de 0,5.

Ceci peut être traduit graphiquement de la façon suivante :



II₂ - RESULTATS

Les résultats obtenus portent sur les points suivants :

- Valeur de la DL₅₀.
- Modification éventuelle de la radiosensibilité chez la souris sous l'effet des ions métalliques et de certains de leurs chélates à l'EDTA.
- Résultats de l'analyse séquentielle selon KIMBALL et courbe de survie / 30 jours.

II₂ - 1 - Valeur de la DL₅₀

Nous avons porté dans la figure 2 la droite de régression établie comme nous l'avons décrit dans le paragraphe II₁ - 3, d'après les probits de mortalité en fonction des doses, celles-ci étant exprimées en rads.

II₂ - 2 - Modifications de la radiosensibilité chez la souris par des ions métalliques et certains de leurs chélates à l'EDTA

Nous avons réparti les différents résultats obtenus suivant nos conditions expérimentales en quatre tableaux :

Tableau I - Modification de la radiosensibilité chez la souris par des ions métalliques administrés avant irradiation.

Tableau II - Modification de la radiosensibilité chez la souris par des chélates métalliques (1 : 1) à l'EDTA administrés avant irradiation.

Tableau III - Modification de la radiosensibilité chez la souris par quelques cations administrés, à doses variables, avant irradiation.

Tableau IV - Modification de la radiosensibilité chez la souris par quelques cations administrés après irradiation.

II₂ - 3 - Résultats de l'analyse séquentielle selon KIMBALL et courbe de survie / 30 jours.

Nous avons décrit cette méthode d'analyse statistique au paragraphe II₁-3, ainsi que la représentation graphique que l'on peut en donner. Pour des raisons pratiques cette dernière a été modifiée en supprimant un fragment de la partie III (figure 1). En effet qu'il s'agisse d'ions ou de chélates, celle-ci n'est jamais franchie. (Figures 3 à 31 partie supérieure).

La mortalité a été suivie journallement pour chaque lot jusqu'au trentième jour.

Nous avons pu ainsi établir le pourcentage de survie des animaux traités (pointillés) par rapport aux témoins (trait plein) pour certains cations et chélates étudiés (figures 3 à 31 partie inférieure).

Cation	Dose administrée en M. atg/Kg	Essai Séquentiel		Pourcentage de survie/30 j	TS ₅₀
		$\sum(E_n - C_n)$	$\sum Z(E_n)$		
Ni II	0,0270	+ 7	+ 1,3453	20	+ 7
K I	1,6620	+ 2	+ 1,3451	20	+11
Sn IV	0,0354	+ 4	+ 1,1532	20	+ 7
Cr III	0,1800	+ 1	+ 1,1530	15	+ 2
VO II	0,0552	+ 4	+ 1,1530	0	+ 3
In III	0,0048	+ 2	+ 0,9610	0	- 3
Cd II	0,0066	+ 2	+ 0,9609	0	+ 4
Sr II	1,1460	+ 1	+ 0,9609	10	+ 5
Pt IV	0,0142	0	+ 0,9609	0	+ 1
La III	0,0988	- 1	+ 0,9608	10	0
Ba II	0,0516	- 2	+ 0,7688	0	- 3
H I	0,2202	- 1	+ 0,7687	0	- 2
Pd II	0,1178	- 1	+ 0,7686	0	0
Na I	8,9040	- 1	+ 0,7686	0	0
Ag I	0,0258	- 1	+ 0,7685	0	- 1
Fe II	0,1400	- 4	+ 0,5766	0	- 3
Li I	2,8500	+ 1	+ 0,5766	10	+ 1
Ir IV	0,0582	+ 2	+ 0,5765	0	+ 3
Pb II	0,0740	0	+ 0,5764	0	+ 1
Zn II	0,0360	- 1	+ 0,5764	0	0
Se III	0,1230	0	+ 0,5764	0	- 6
Cs I	1,7340	+ 1	+ 0,5764	0	- 1
Ga III	0,0420	0	+ 0,5764	0	- 1
Cu II	0,0090	- 1	+ 0,3845	25	+ 8
Fe III	0,0840	- 4	+ 0,3843	0	- 4
UO ₂ II	0,0041	- 3	+ 0,3843	10	- 5
Y III	0,1320	- 1	+ 0,2081	20	+ 3
Tl I	0,0200	- 1	+ 0,1923	0	- 1
NH ₄ I	1,8140	- 5	+ 0,1923	0	- 5
Au III	0,0346	- 5	+ 0,1921	0	0
Zro II	0,1922	- 2	+ 0,0961	0	+ 5
Co II	0,0700	0	+ 0,0001	0	- 6
Ca II	0,5000	- 3	+ 0,0001	0	- 6
Mg II	0,7180	- 3	+ 0,0001	0	- 2
Mn II	0,1600	0	0,0000	0	- 3
Sn II	0,0692	- 5	- 0,1920	0	-15
Al III	0,1600	- 3	- 0,3844	0	- 8
Hg II	0,0004	- 2	- 0,3844	0	- 7
Be II	0,0300	- 7	- 0,3844	0	- 3
Rb I	1,9000	- 5	- 0,7686	0	- 5
Th IV	0,1774	- 6	- 0,7686	0	- 4
Ce III	0,0794	- 1	- 0,9609	0	- 2

TABLEAU I - MODIFICATION DE LA RADIOSENSIBILITE CHEZ LA SOURIS PAR DES
----- IONS METALLIQUES ADMINISTRES AVANT IRRADIATION

Cation	Dose administrée en M.atg/Kg	Essai Séquentiel		Pourcentage de survie/30 j	TS ₅₀
		$\sum(E_N - C_N)$	$\sum Z(E_n)$		
Fe III EDTA	0,0760	- 1	+ 0,9608	0	0
Cu II EDTA	0,0066	+ 2	+ 0,7890	10	+ 5
Co II EDTA	0,7000	+ 3	+ 0,5764	0	+ 2
Cr III EDTA	1,1200	+ 5	+ 0,5764	0	+ 6
Ni II EDTA	0,3000	+ 1	+ 0,3844	0	0
Mn II EDTA	1,2000	- 1	+ 0,3843	0	- 6
Hg II EDTA	0,0027	- 4	+ 0,1922	0	- 3
Zn II EDTA	0,2600	- 3	0,0000	0	+ 1
Fe II EDTA	0,1440	- 7	- 0,1922	0	- 1
Cd II EDTA	0,0140	- 7	- 0,5766	0	0
Al III EDTA	0,1080	- 7	- 0,6727	0	- 7
Ca II EDTA	2,9120	- 7	- 0,7687	0	- 3

TABLEAU II - MODIFICATION DE LA RADIOSENSIBILITE CHEZ LA SOURIS PAR DES
 ----- CHELATES METALLIQUES (1 : 1) à l'EDTA ADMINISTRES AVANT
 IRRADIATION

Cation	Doses expérimentées par rapport à la DL _{50/30} prise comme unité	$\sum (E_n - C_n)$	$\sum Z (E_n)$	TS ₅₀	Survie 30 j. %
Ni II	0,20	+ 7	+ 1,3453	+ 7	20
	0,33	+ 1	+ 0,5766	- 1	0
	0,50	- 8	- 0,5766	- 6	0
K I	0,20	+ 2	+ 1,3451	+11	20
	0,33	+ 3	+ 0,7686	+ 3	0
	0,50	+ 1	+ 0,3842	0	25
Sn IV	0,20	+ 4	+ 1,1532	+ 7	20
	0,33	+ 3	- 0,5764	- 2	15
	0,50	- 5	+ 0,3844	0	0
Cr III	0,20	+ 1	+ 1,1530	+ 2	15
	0,33	+ 4	+ 0,5764	+ 4	10
	0,50	-11	- 0,1843	- 4	0
VO II	0,20	+ 4	+ 1,1530	+ 3	0
	0,33	+ 7	+ 0,9610	+ 4	0
	0,50	- 8	- 0,3845	- 4	0
In III	0,20	+ 2	+ 0,9610	- 3	0
	0,33	- 2	+ 0,9608	- 1	0
	0,50	- 3	+ 0,0001	- 8	0
Cd II	0,20	+ 2	+ 0,9609	+ 4	0
	0,33	+ 3	+ 0,5765	0	0
	0,50	- 5	- 1,1345	- 5	0
Sr II	0,20	+ 1	+ 0,9609	+ 5	10
	0,33	- 2	- 0,1923	- 1	0
	0,50	- 7	- 0,5764	- 4	0
La III	0,20	- 1	+ 0,9608	0	10
	0,33	0	- 0,5765	- 1	0
	0,50	- 4	+ 0,0001	- 8	0
Cu II	0,20	- 1	+ 0,3845	+ 8	25
	0,33	+ 3	+ 0,3845	+ 1	10
	0,50	- 5	- 0,5764	- 5	10
Li I	0,20	+ 1	+ 0,5766	+ 1	10
	0,33	- 3	- 0,3843	0	0
	0,50	- 6	- 0,1921	- 6	0

TABLEAU III : MODIFICATION DE LA RADIOSENSIBILITE CHEZ LA SOURIS PAR QUELQUES
CATIONS ADMINISTRES, A DOSES VARIABLES, AVANT IRRADIATION

Cation	$\sum(E_n - C_n)$	$\sum Z(E_n)$	Survie 30 j. (%)	TS ₅₀
Ni II	+ 1	+ 0,6688	5	0
K I	+ 2	+ 0,5764	10	0
Sn IV	+ 1	+ 0,5766	0	+ 1
Cr III	- 4	+ 0,1921	0	- 2
VO II	- 3	+ 0,7685	0	+ 3
In III	+ 2	+ 0,5765	15	+ 4
Cd II	- 3	+ 0,7689	0	0
Sr II	- 2	- 0,5864	0	- 2
La III	+ 1	+ 0,9608	0	+ 3
Cu II	- 3	- 0,5764	0	- 2
Li I	- 4	+ 0,1922	0	+ 1

TABLEAU IV - MODIFICATION DE LA RADIOSENSIBILITE CHEZ LA SOURIS PAR QUELQUES
 ----- CATIONS ADMINISTRES APRES IRRADIATION

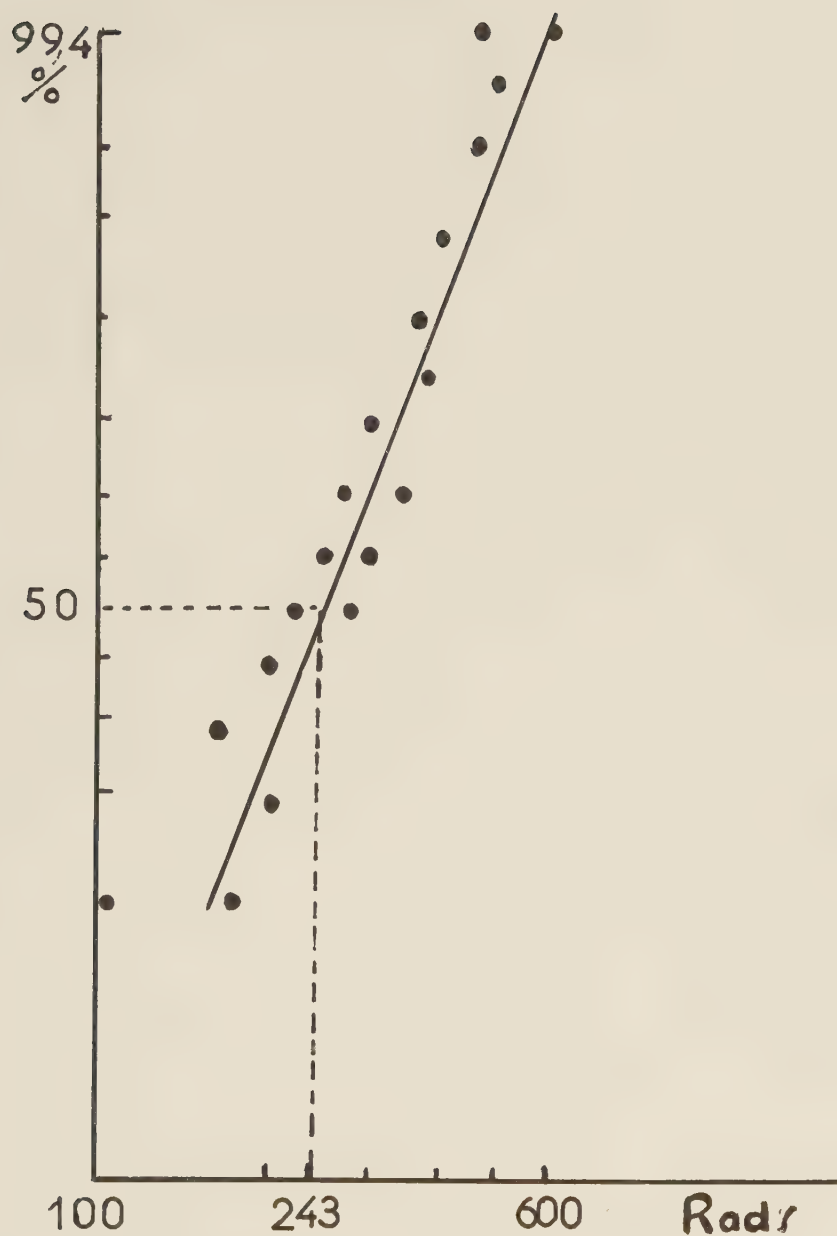


FIGURE 2. - Courbe dose-mortalité.

En ordonnée, les pourcentages de mortalité (échelle probit) de souris Swiss irradiées aux rayons gamma par lot de 20 souris.

En abscisse, les doses (échelle logarithmique) exprimées en rads.

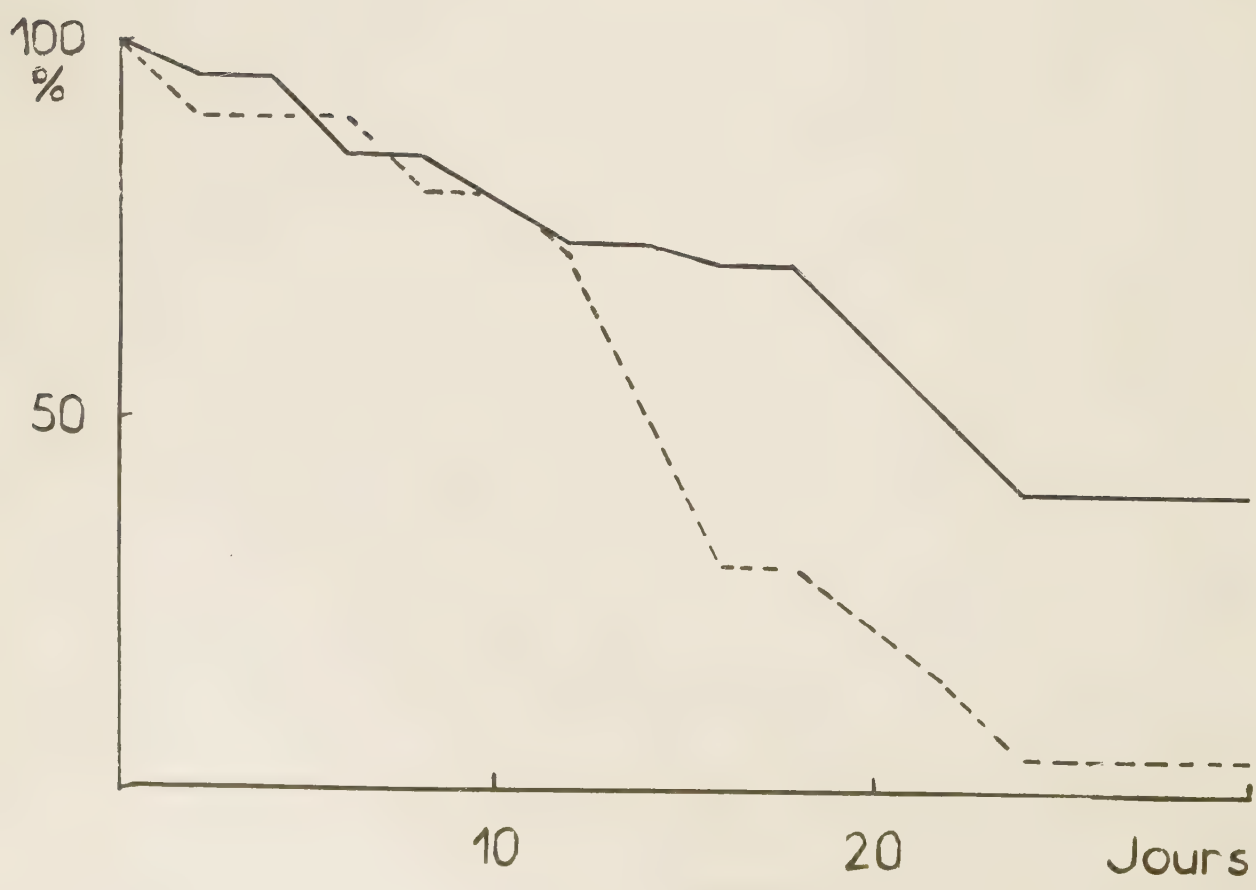
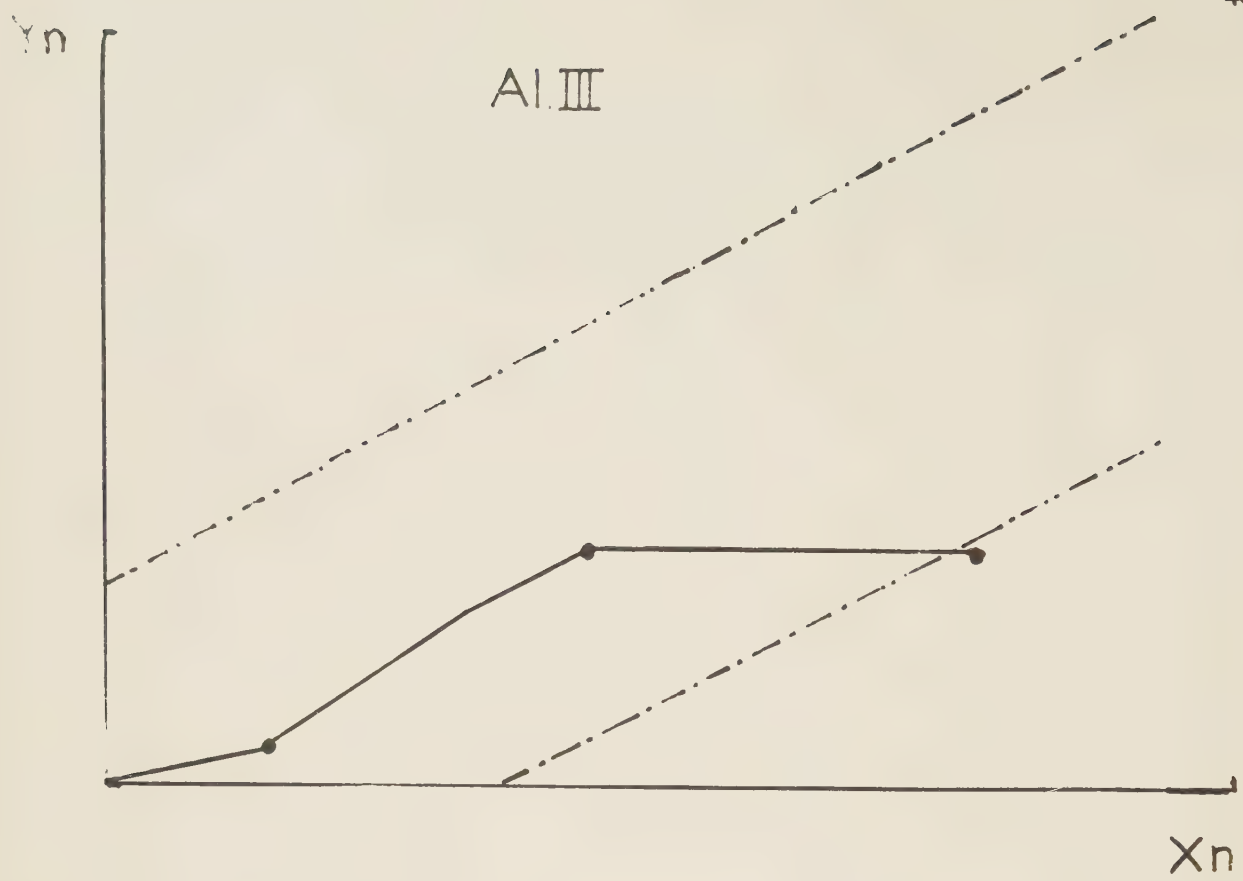


FIGURE 3

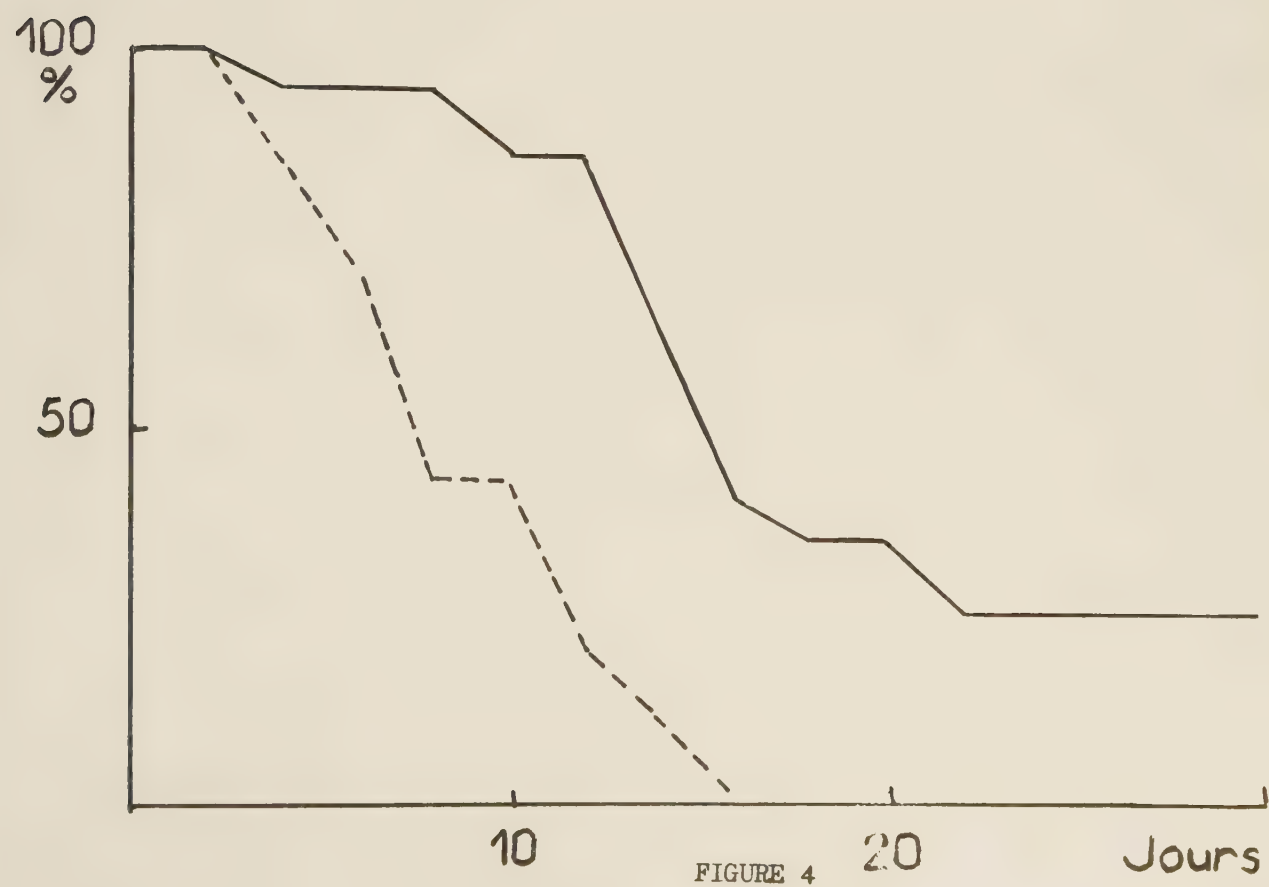
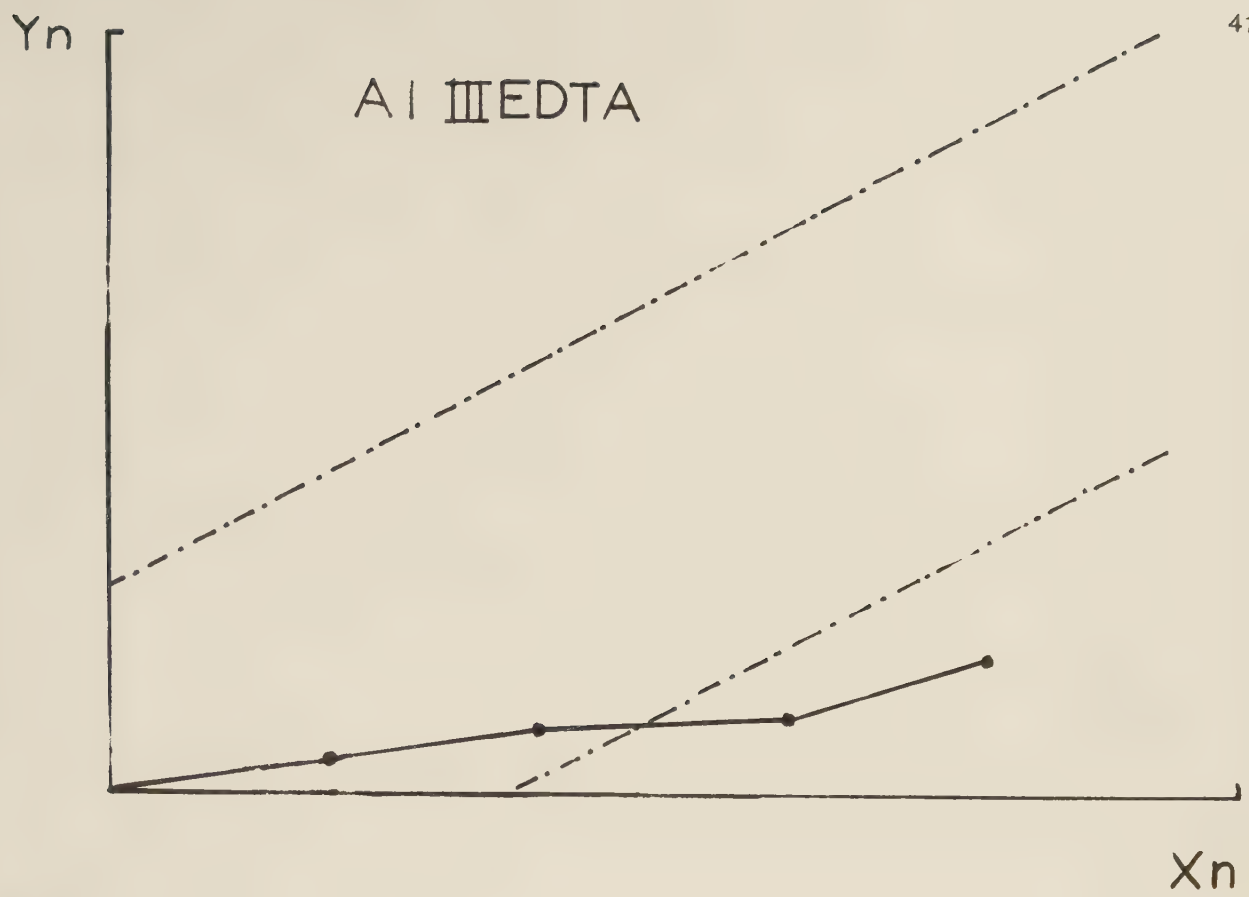
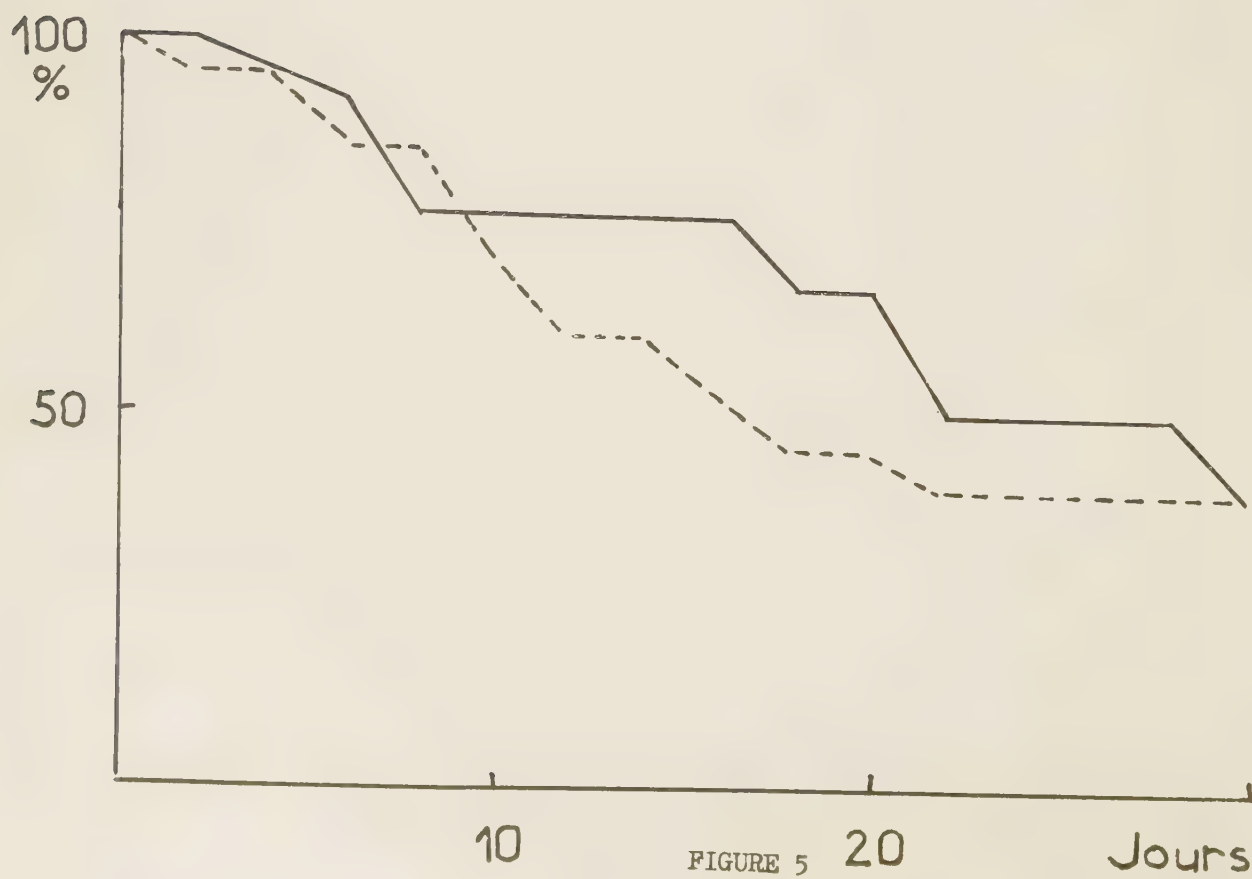
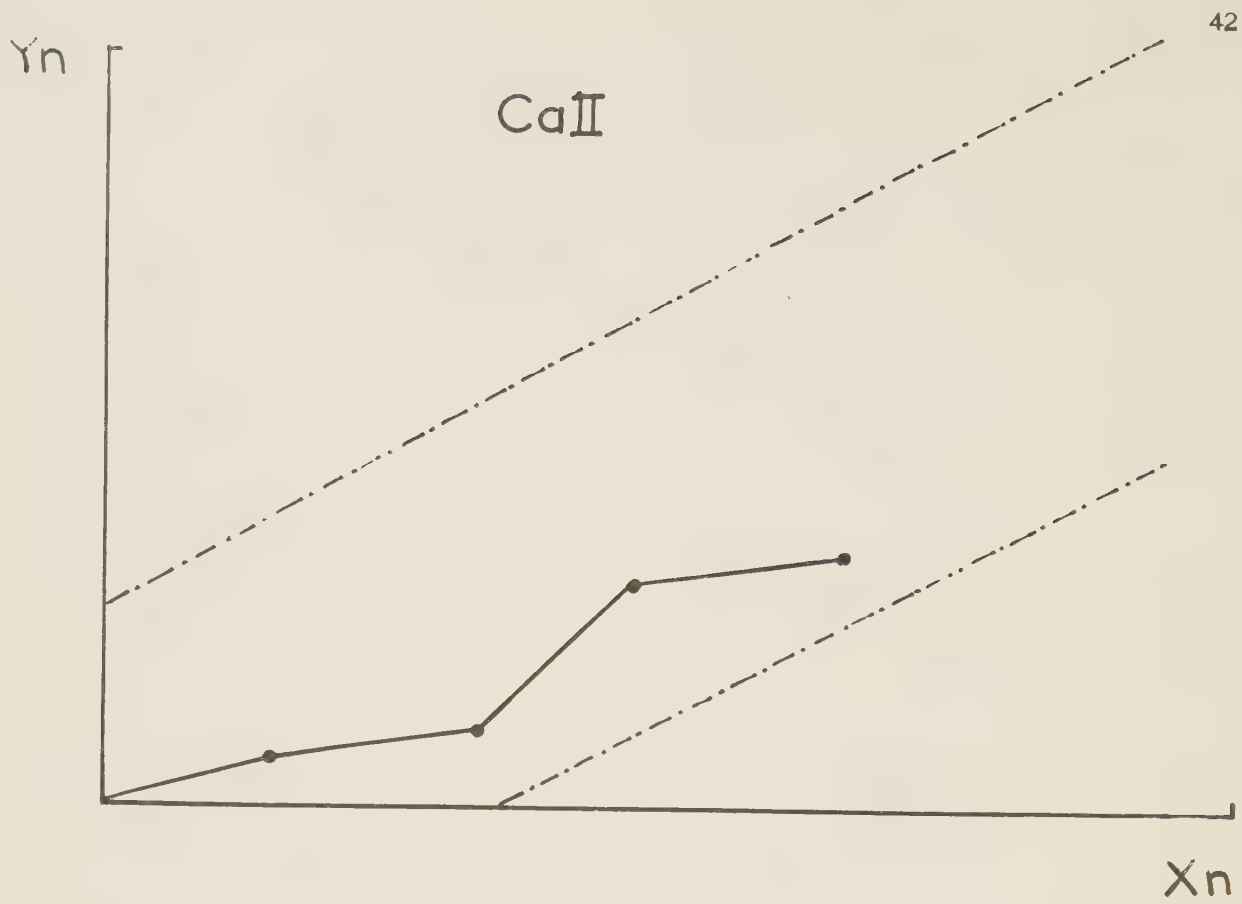


FIGURE 4



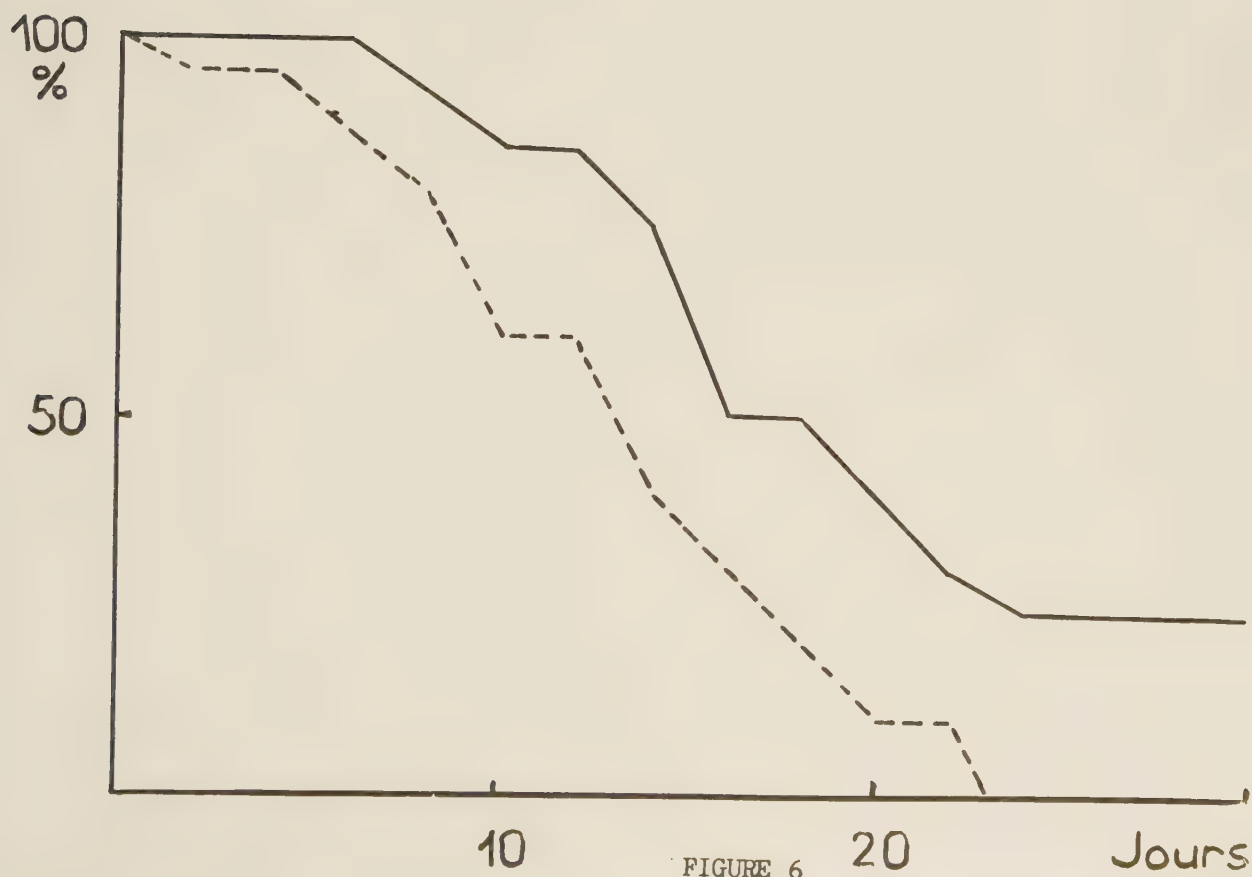
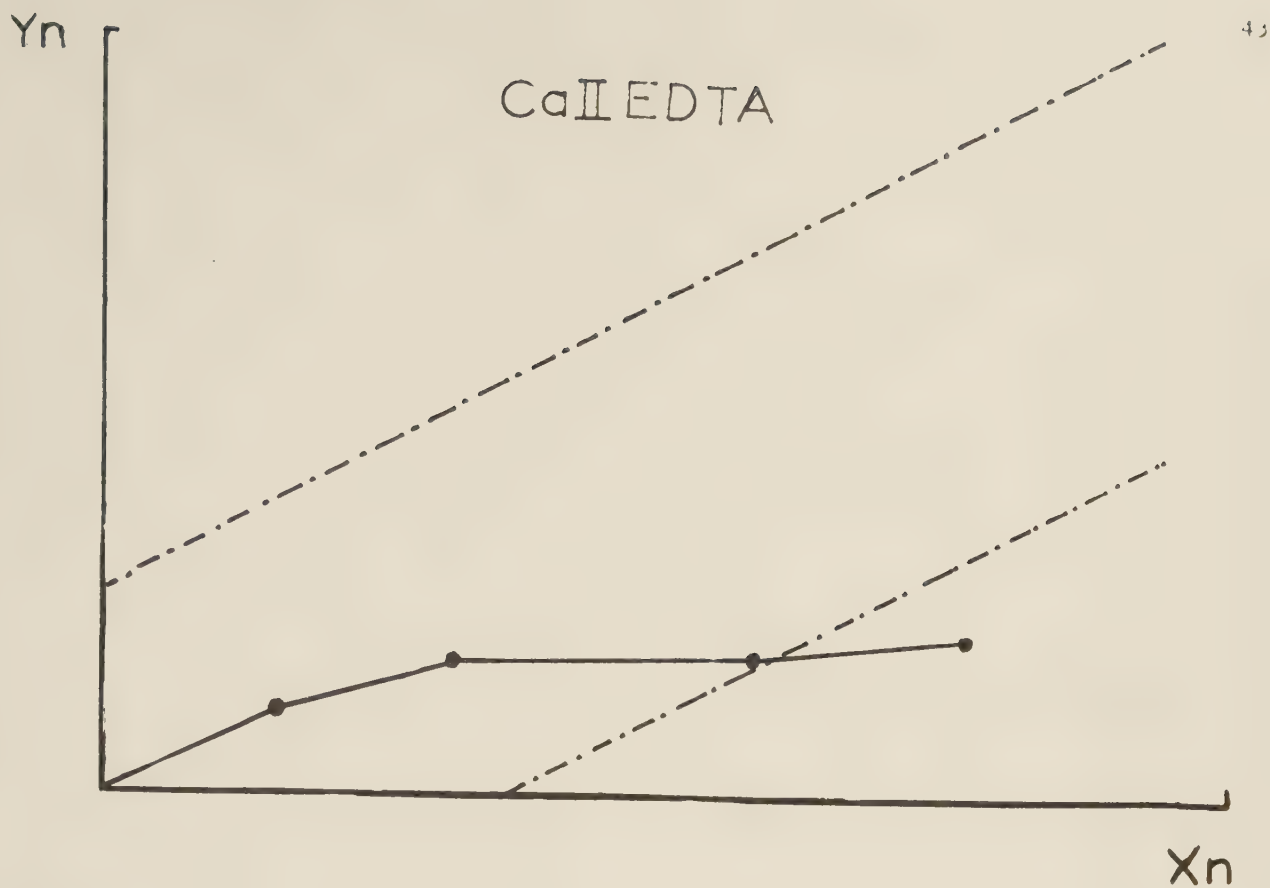


FIGURE 6

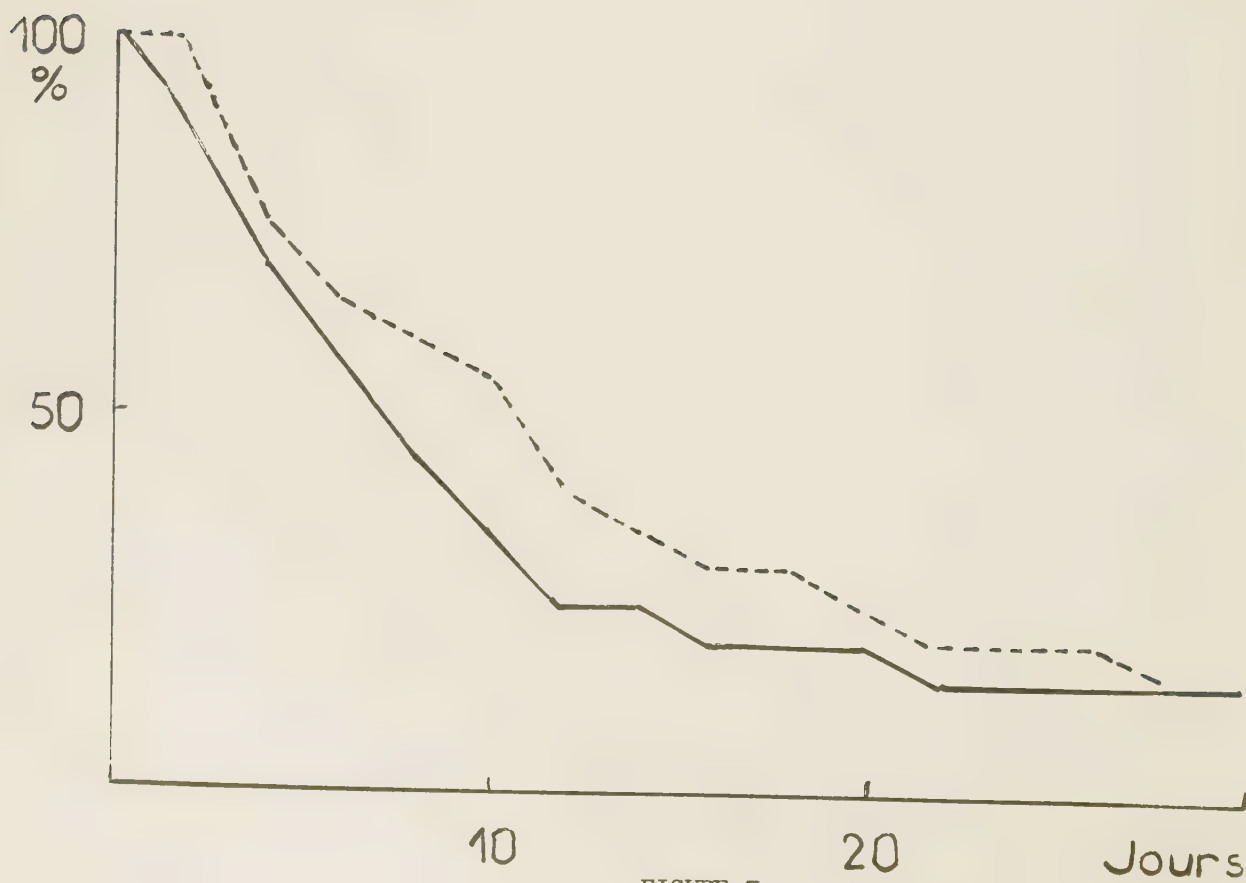
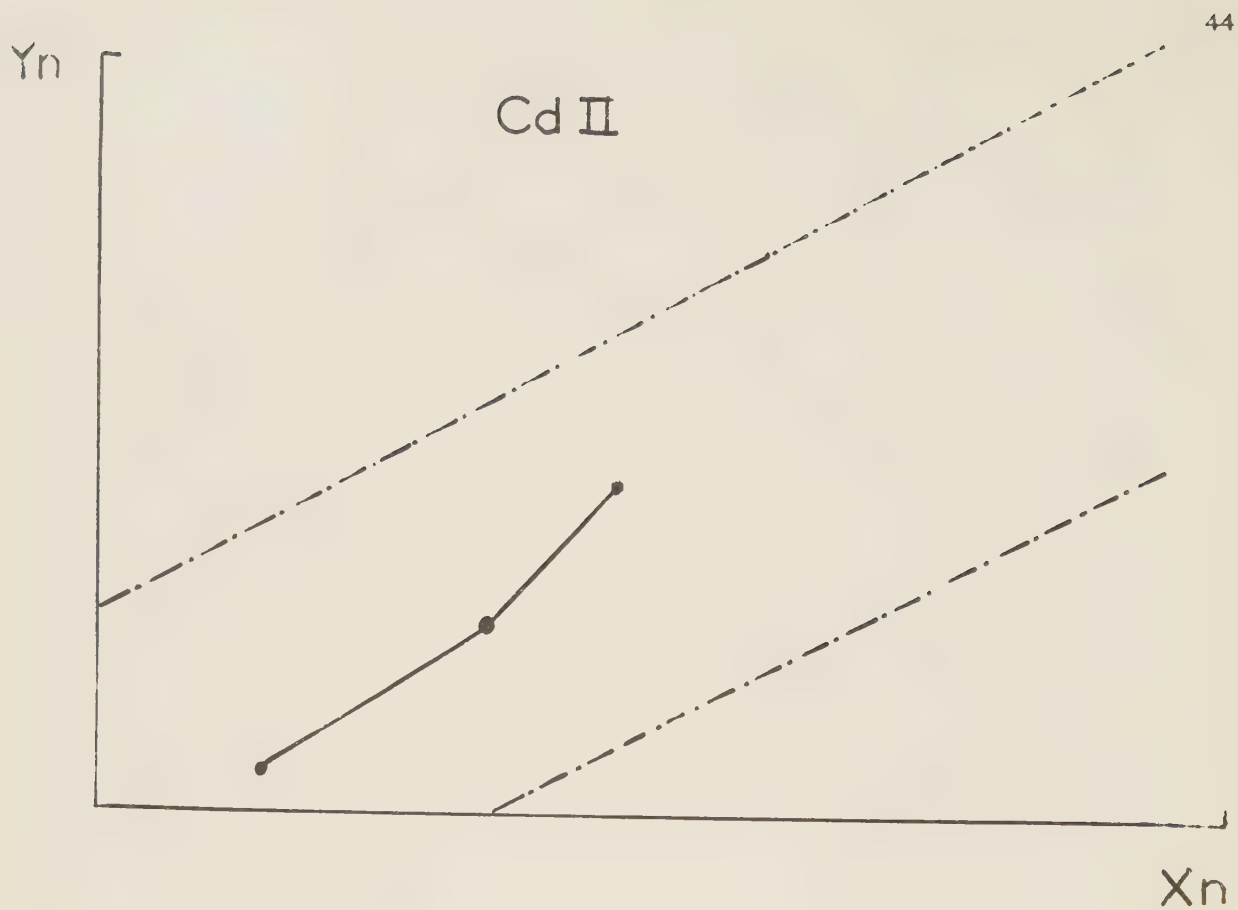


FIGURE 7

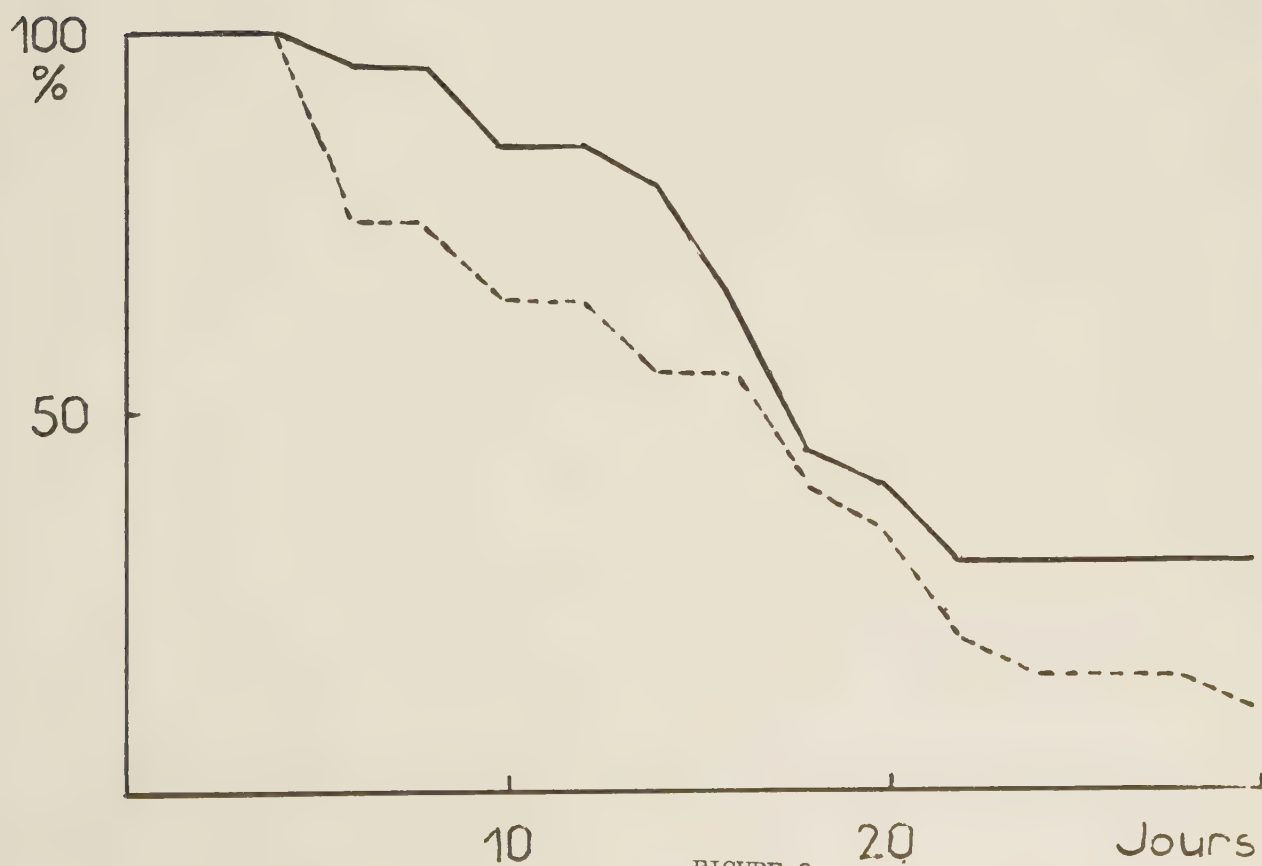
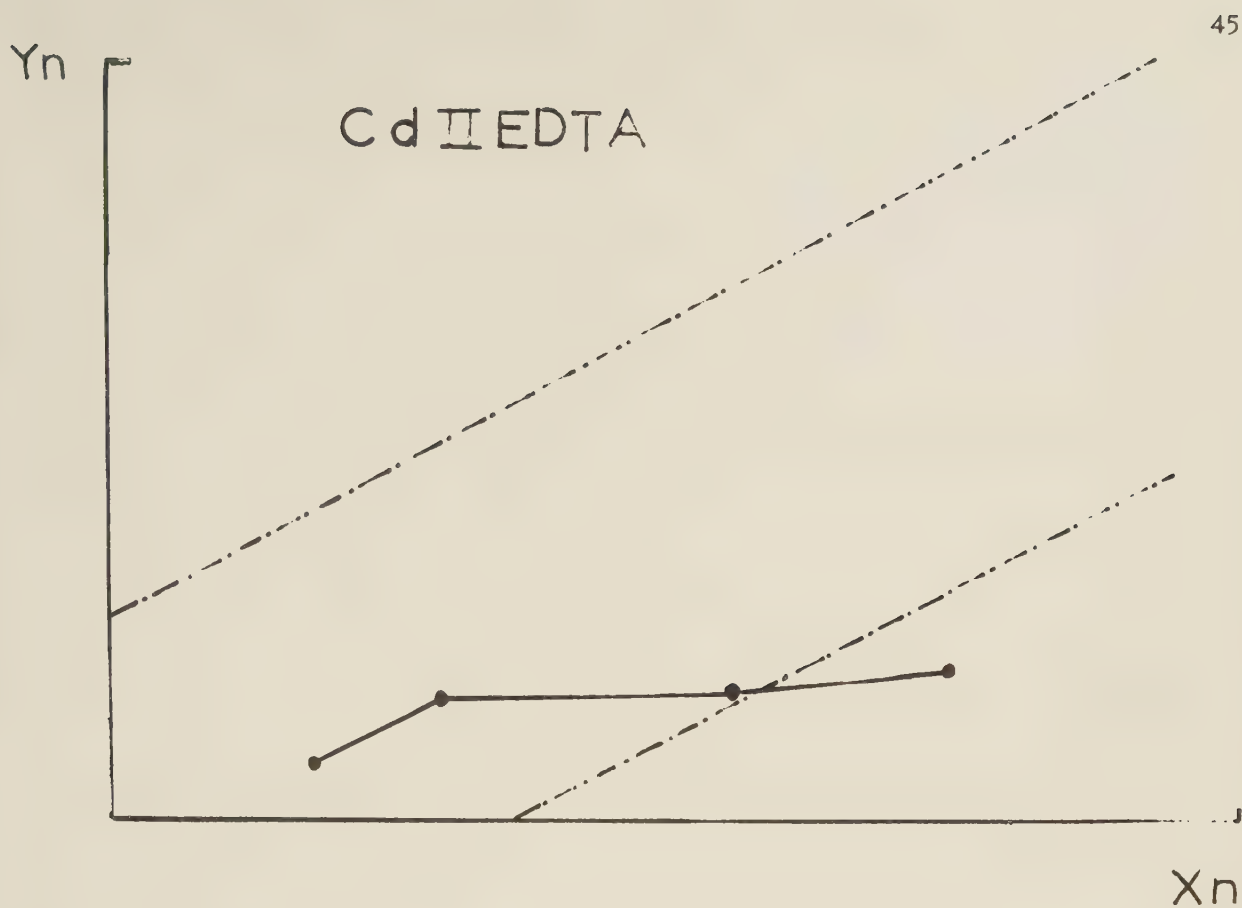


FIGURE 8

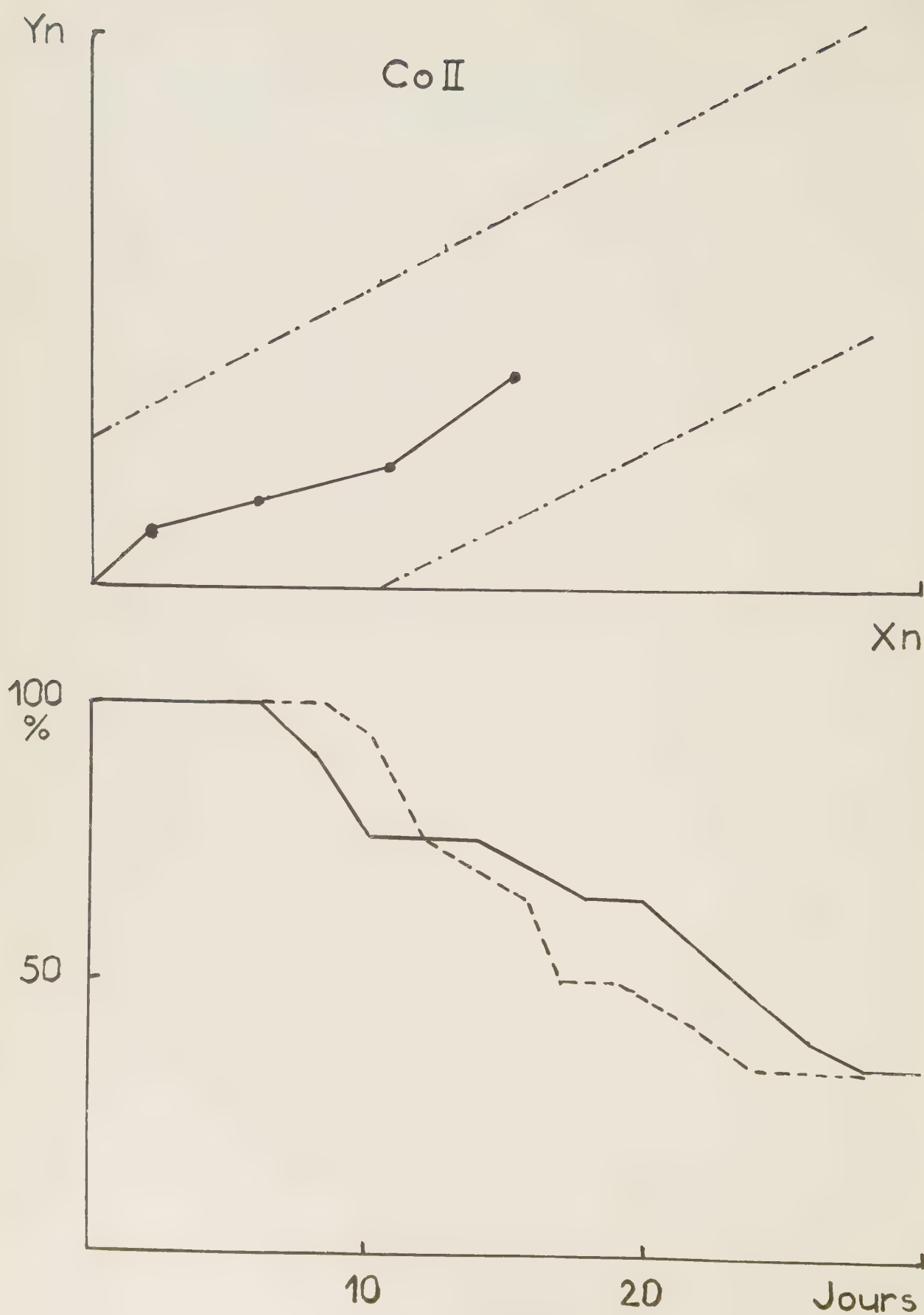


FIGURE 9

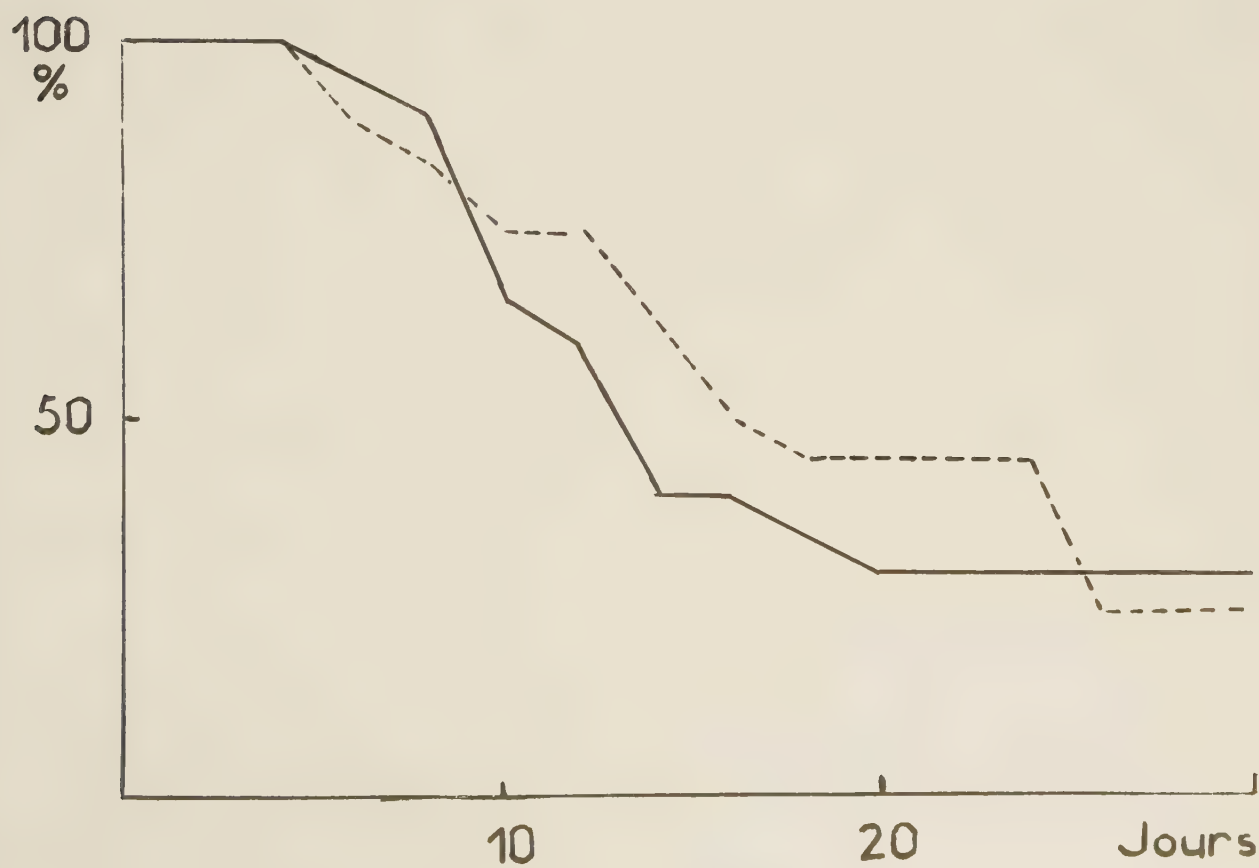
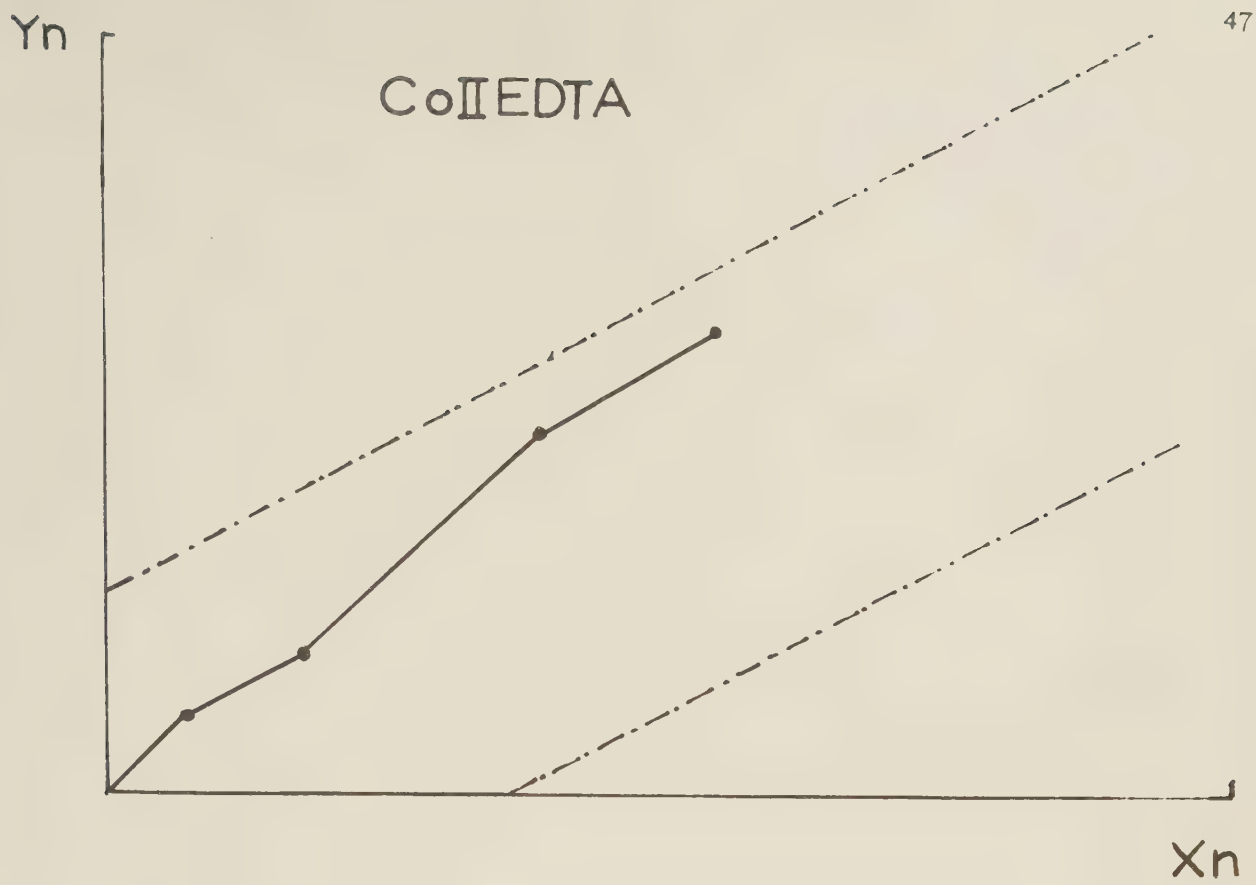


FIGURE 10

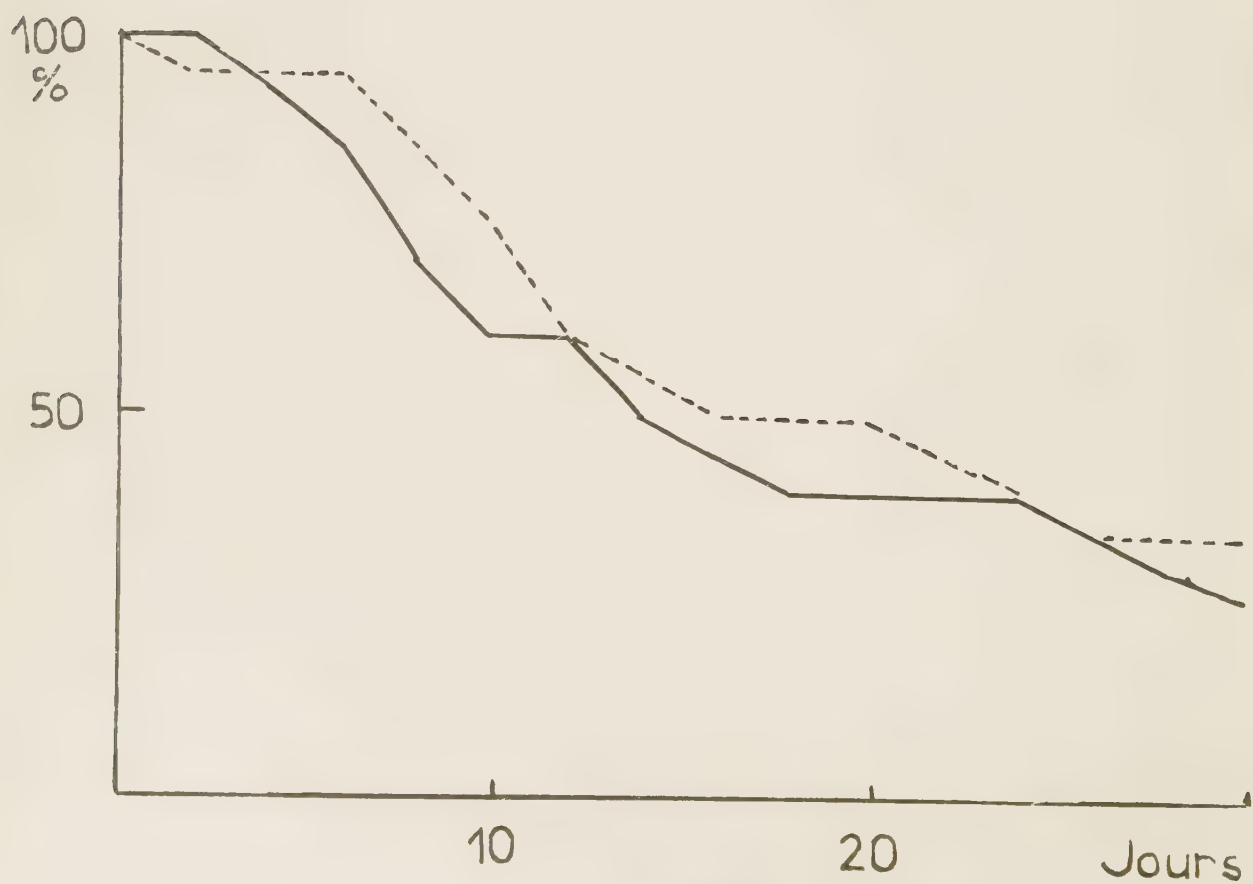
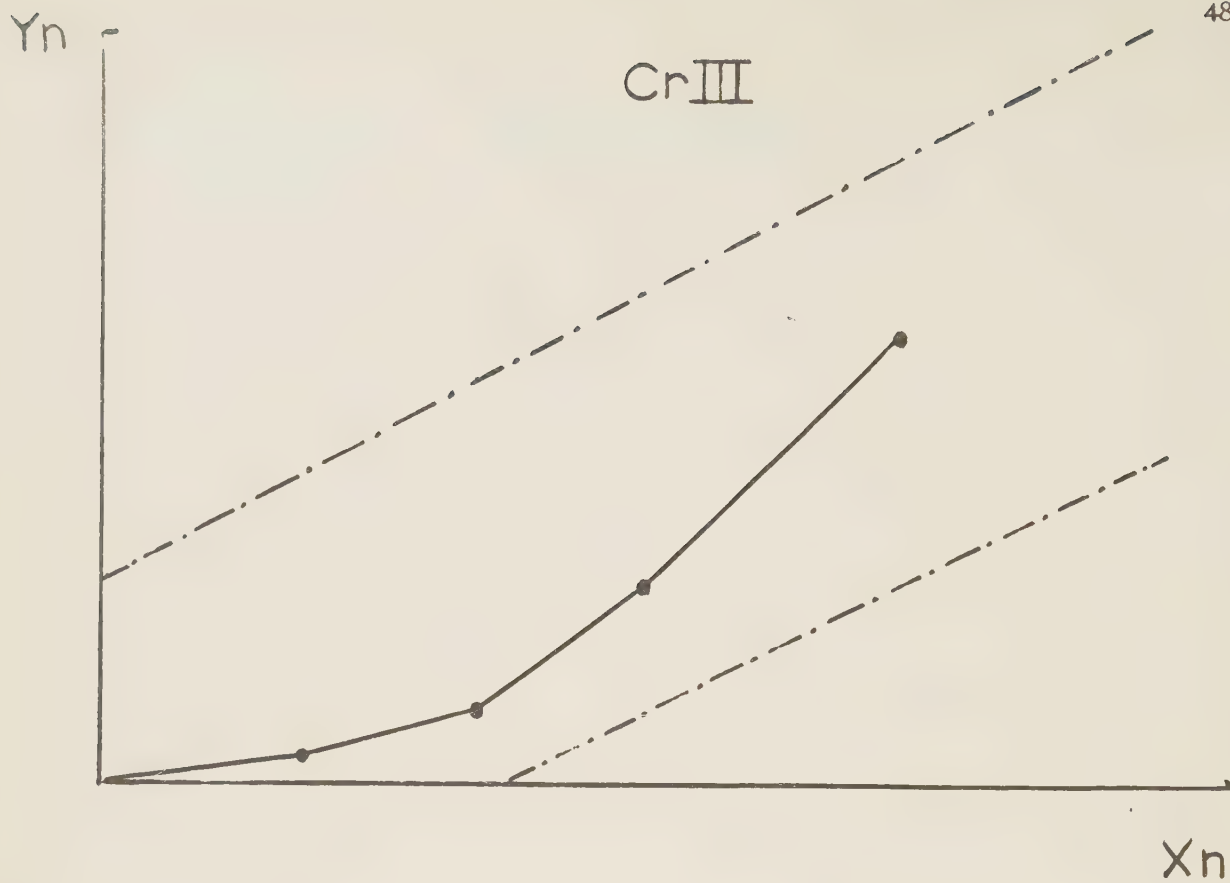


FIGURE 11

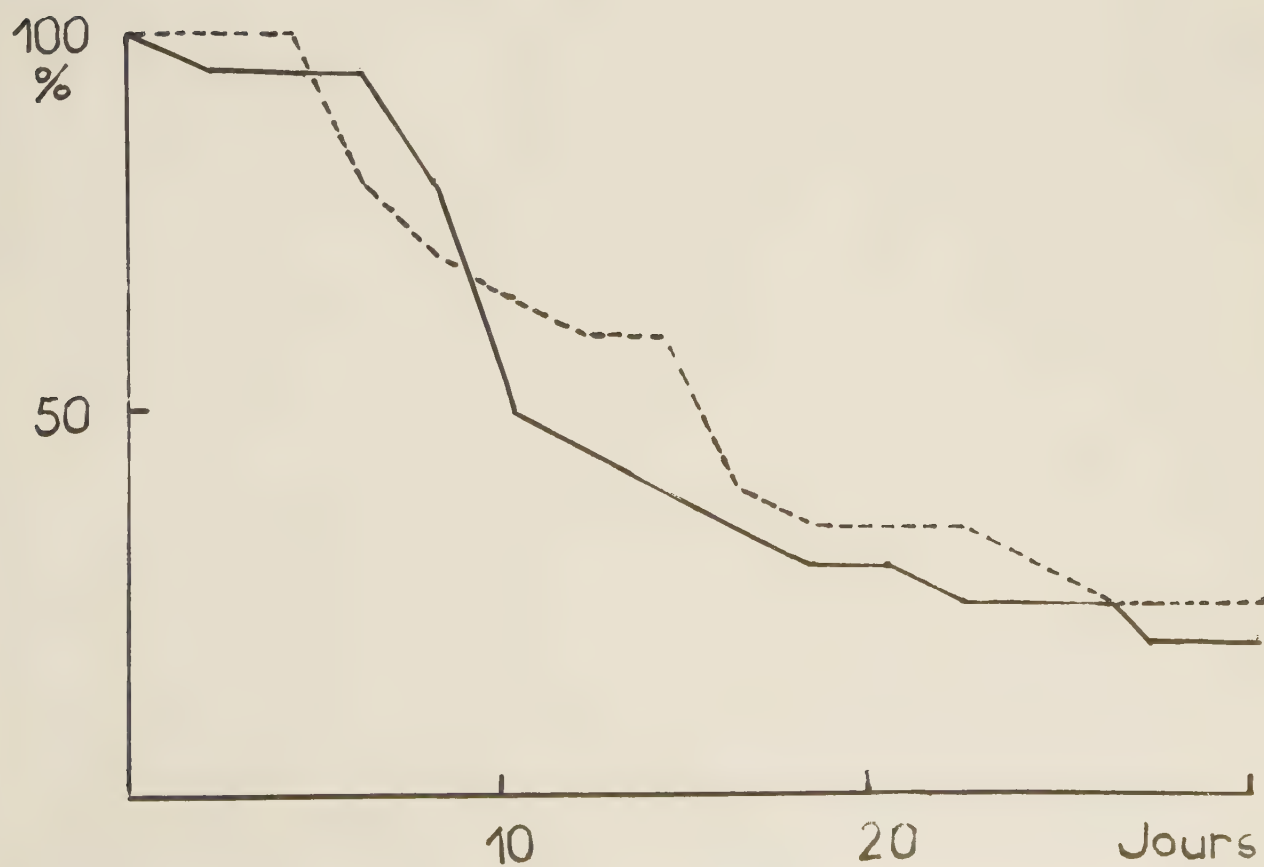
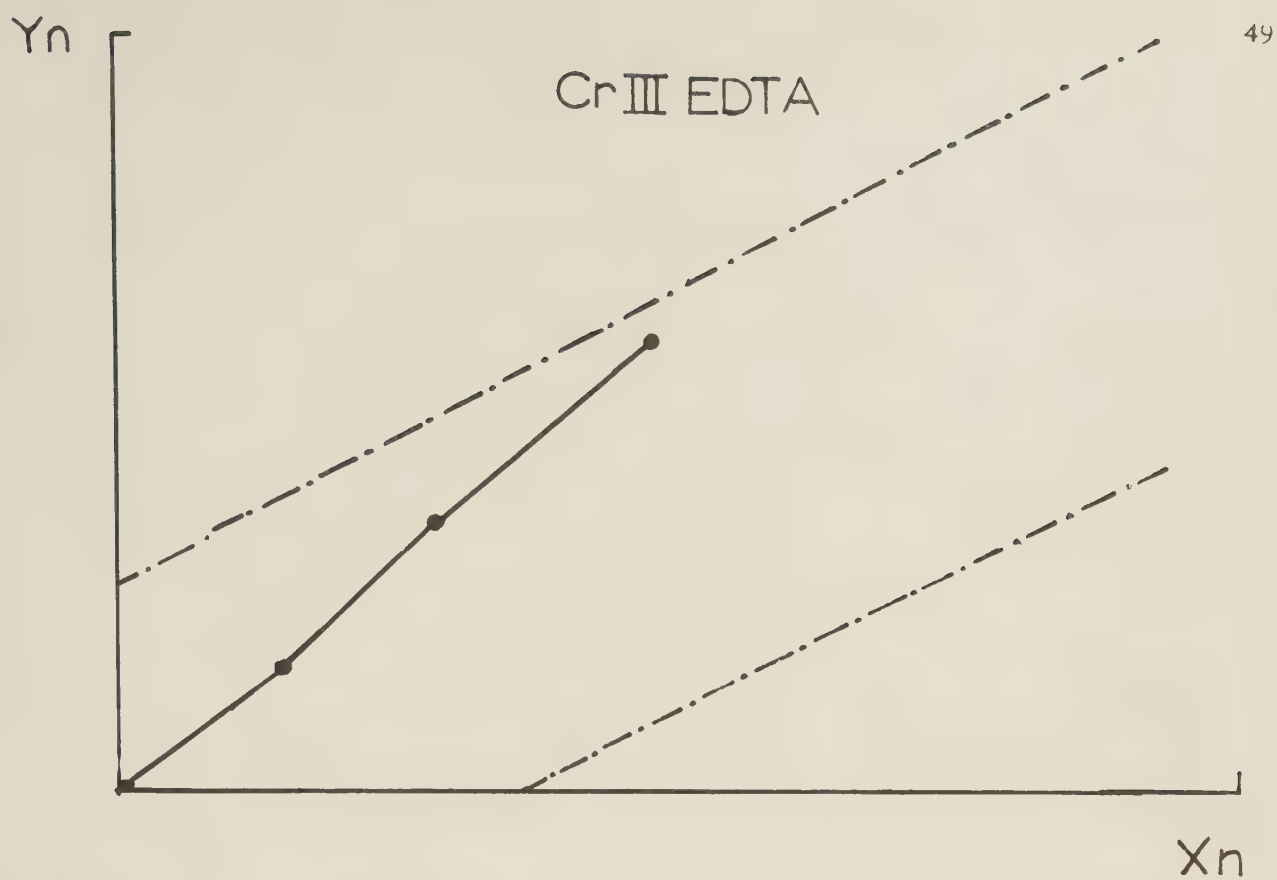


FIGURE 12

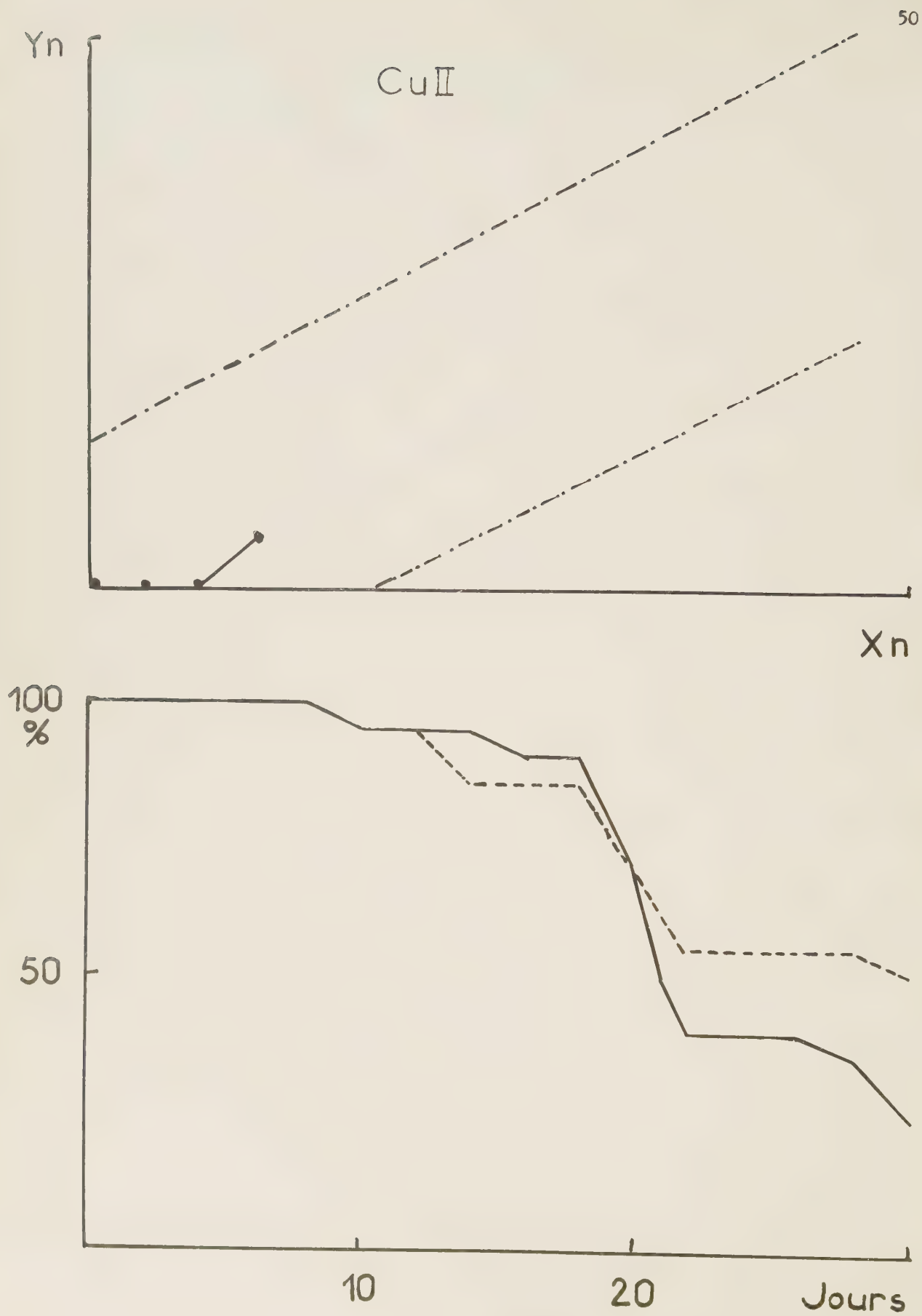


FIGURE 13

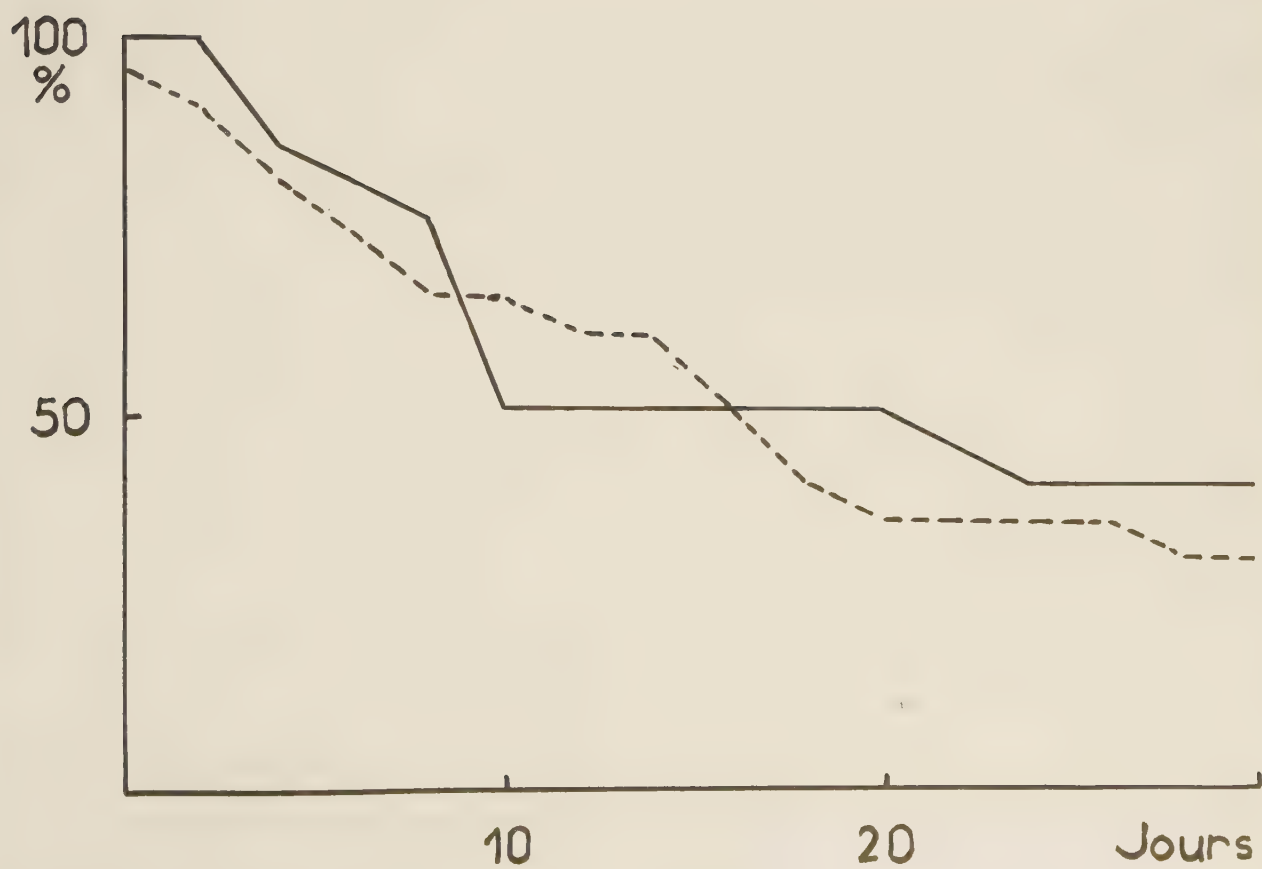
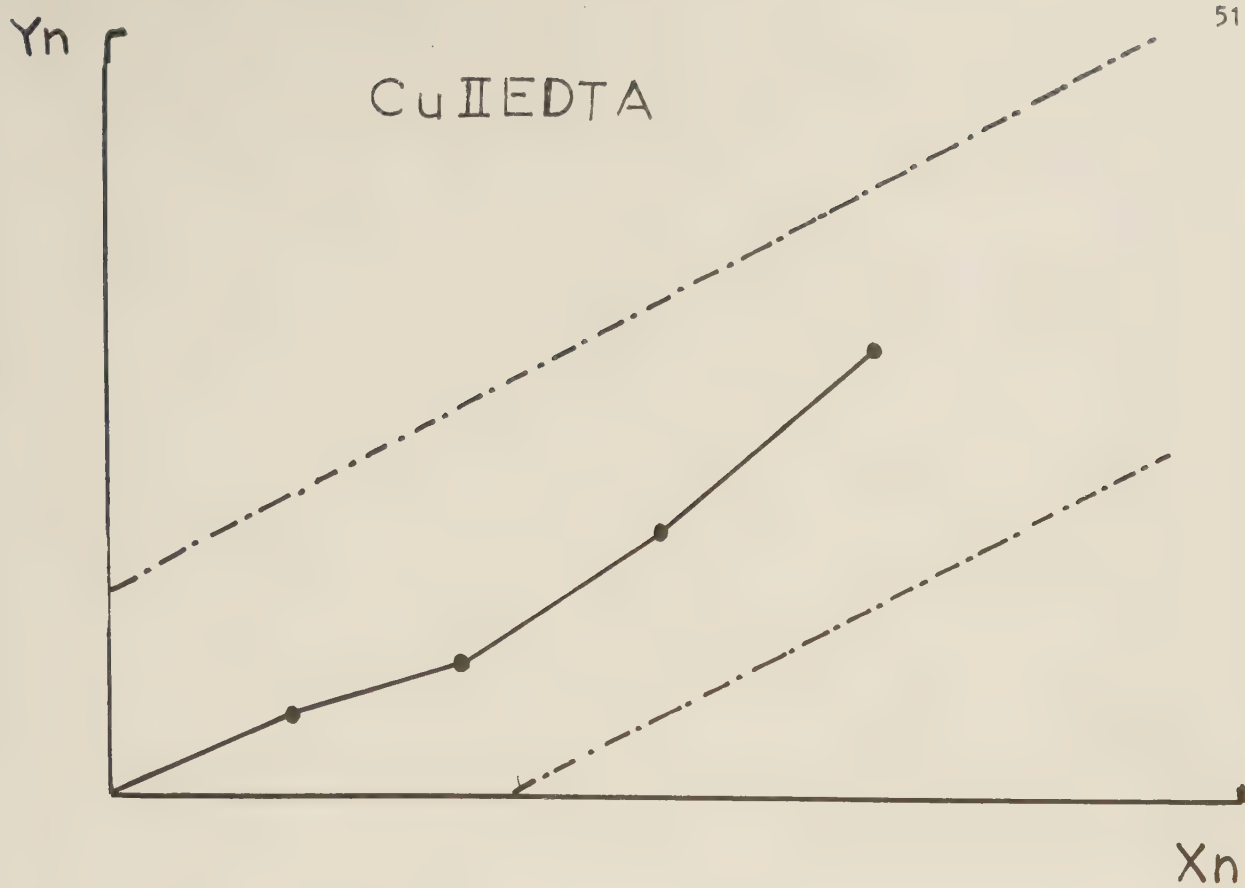
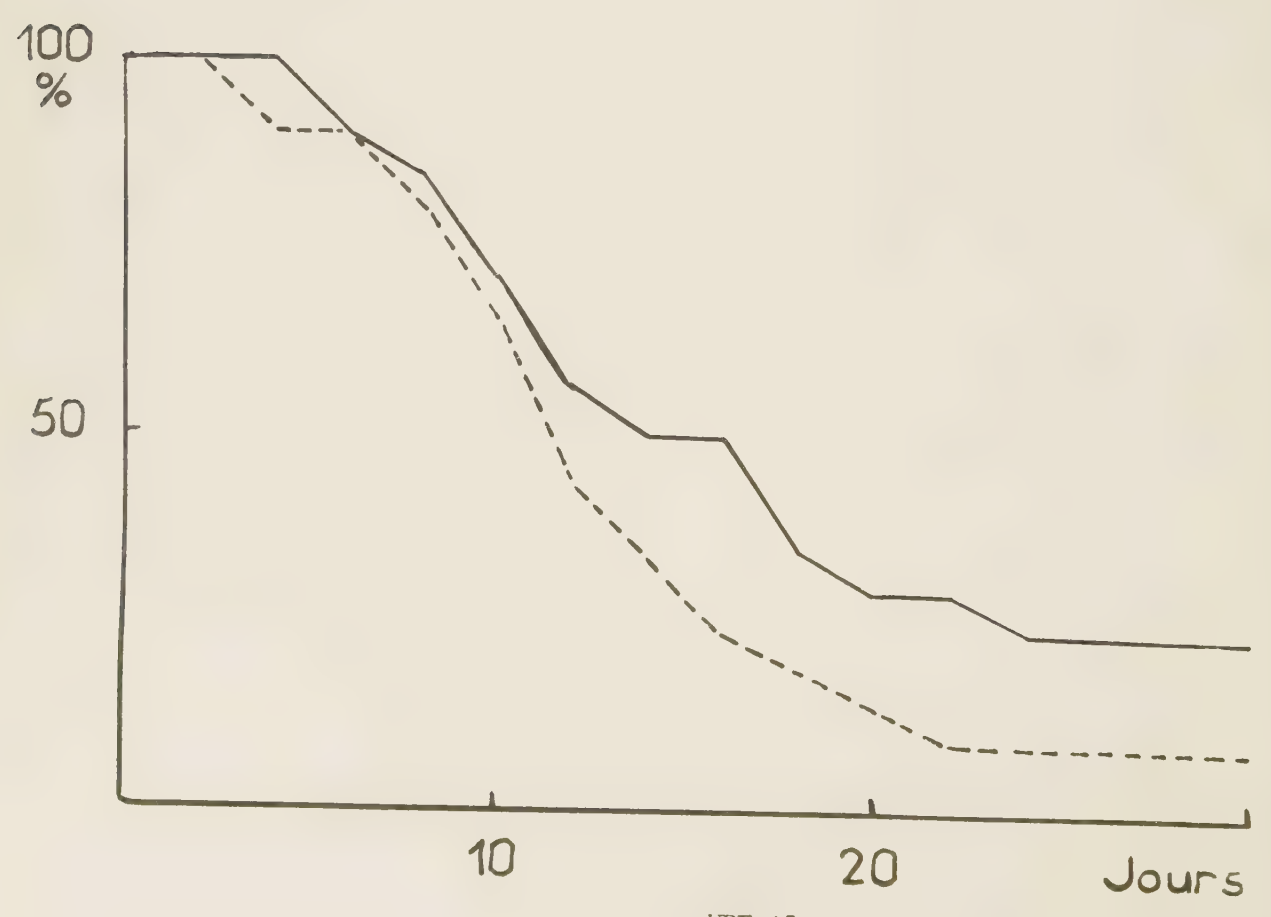
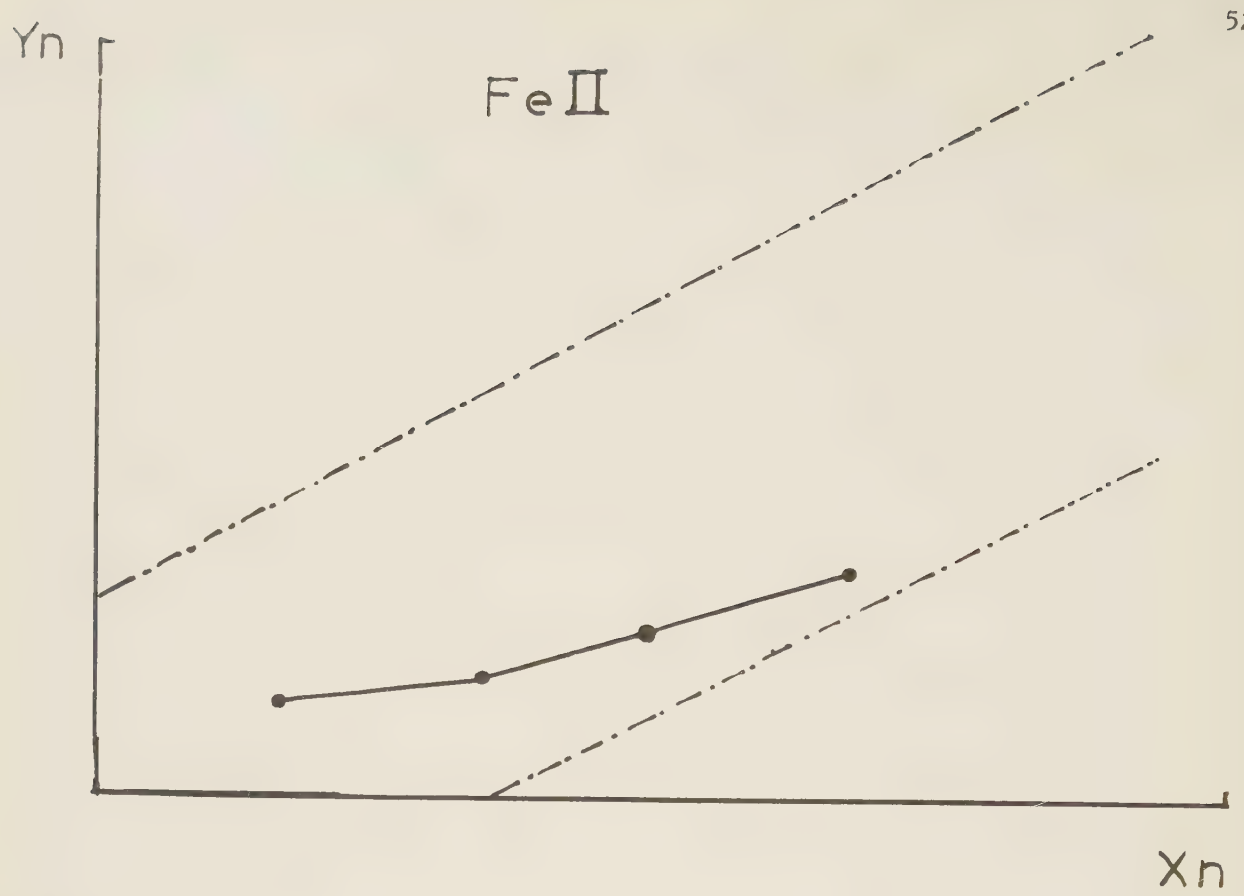


FIGURE 14



Fe II EDTA

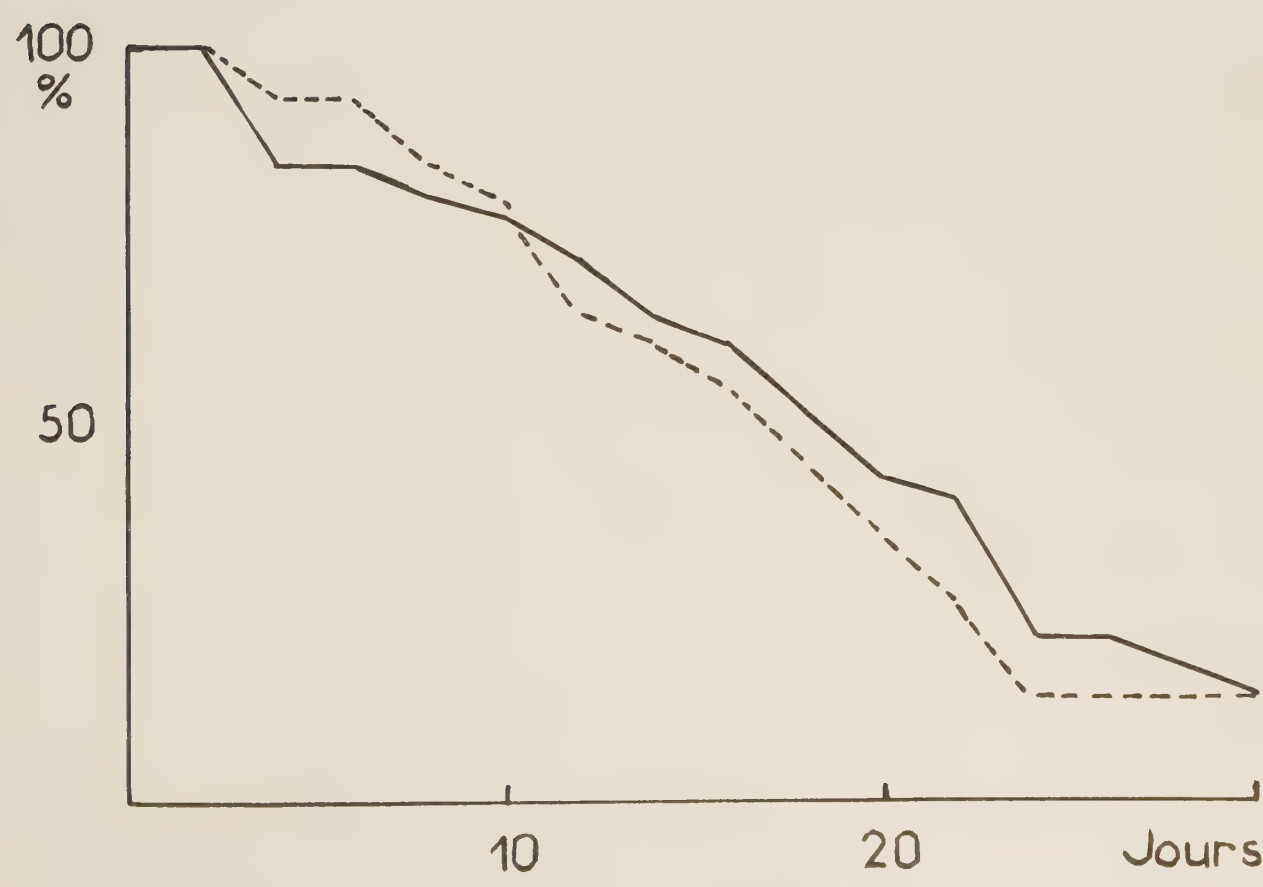
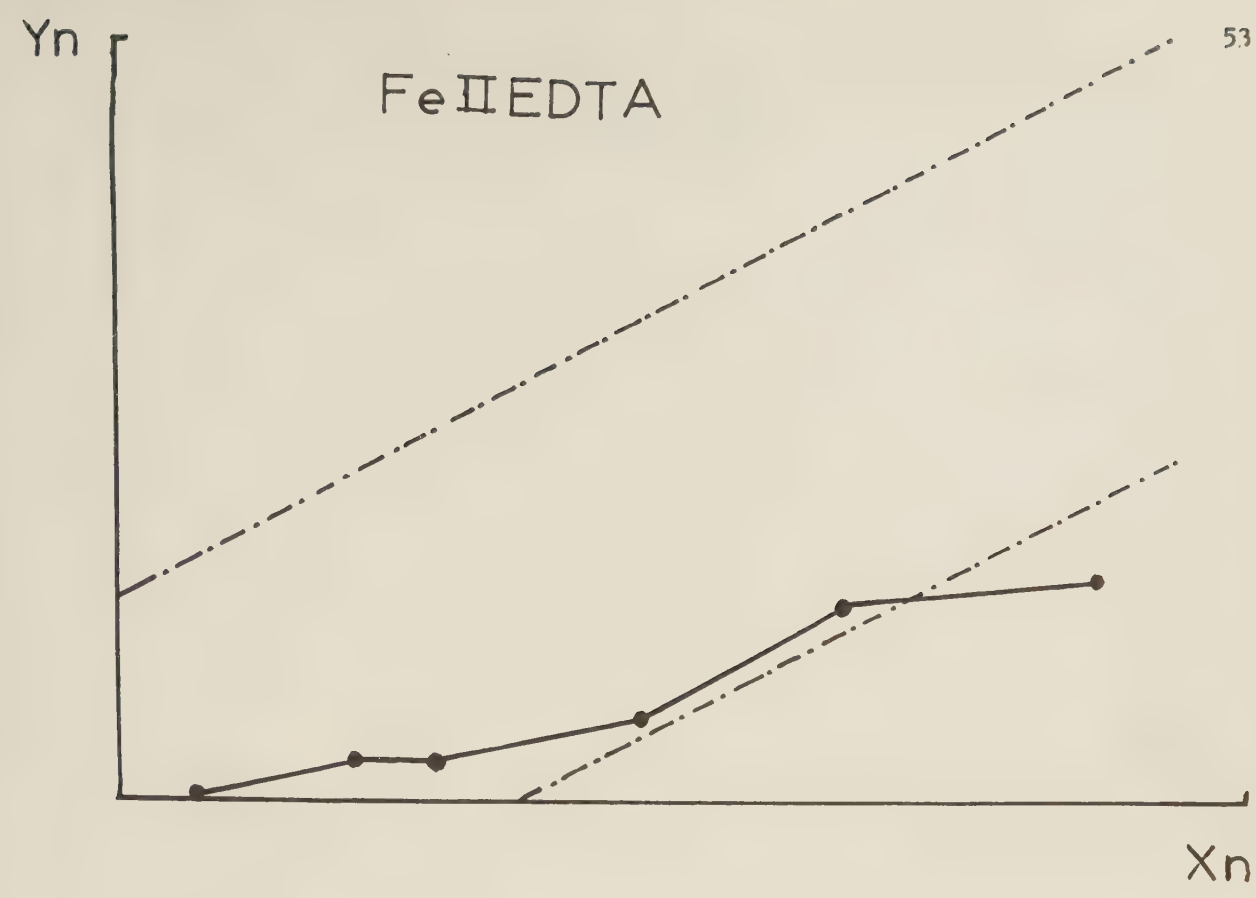


FIGURE 16

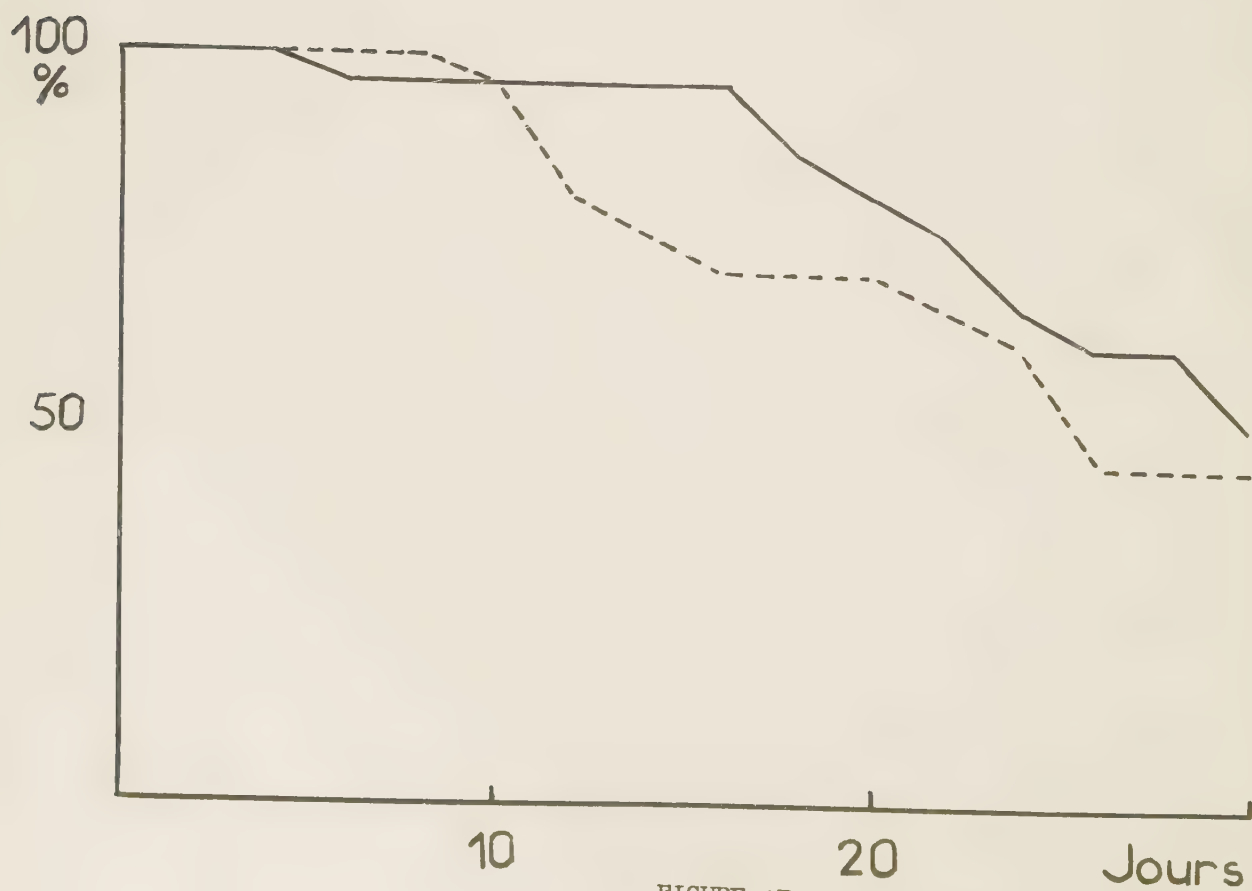
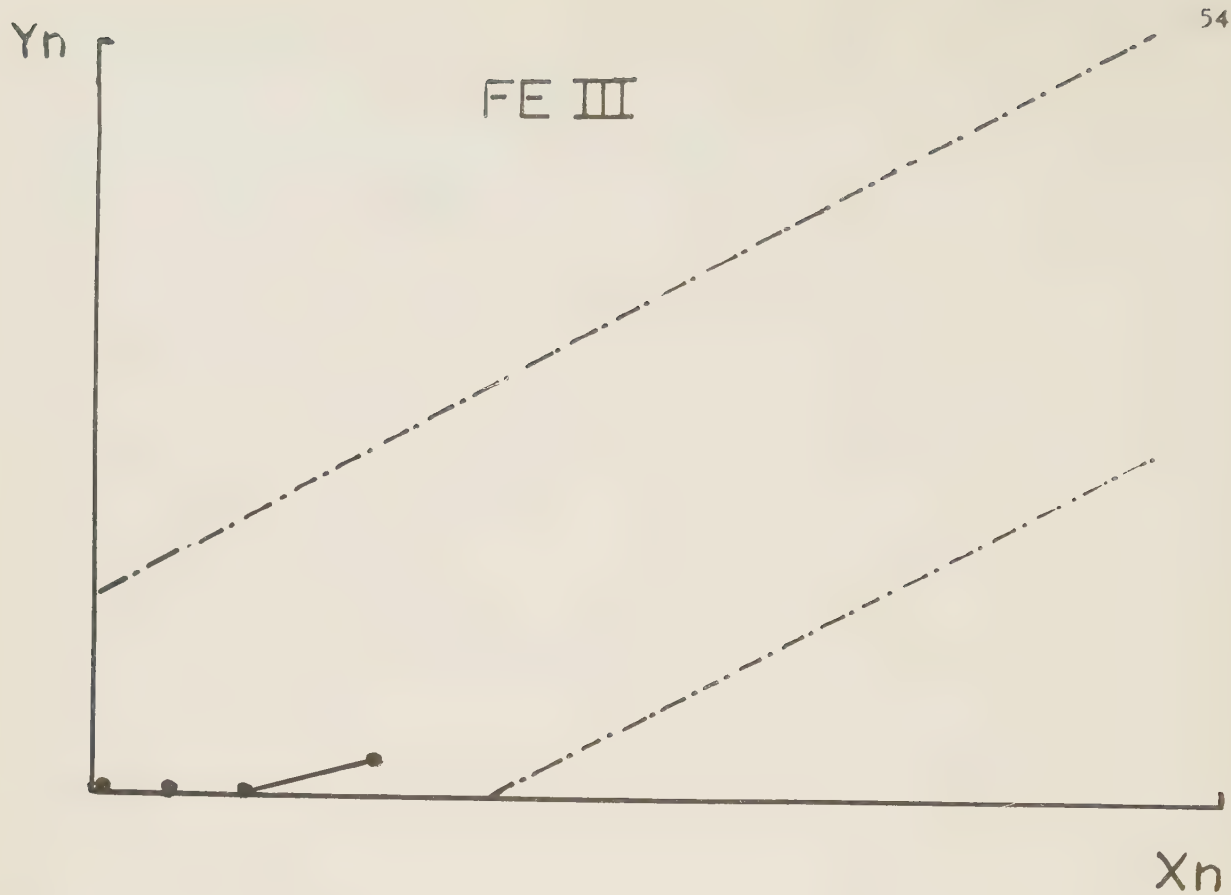


FIGURE 17

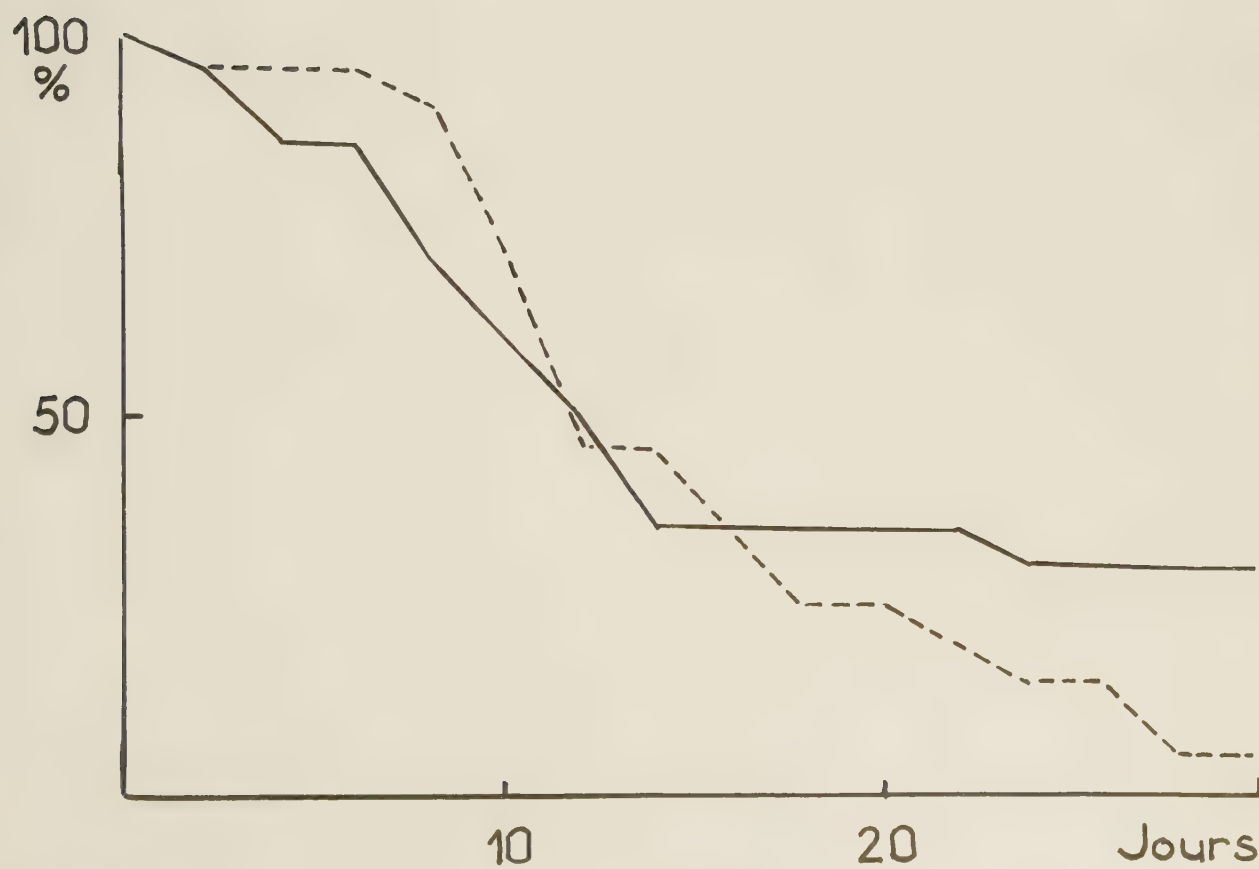
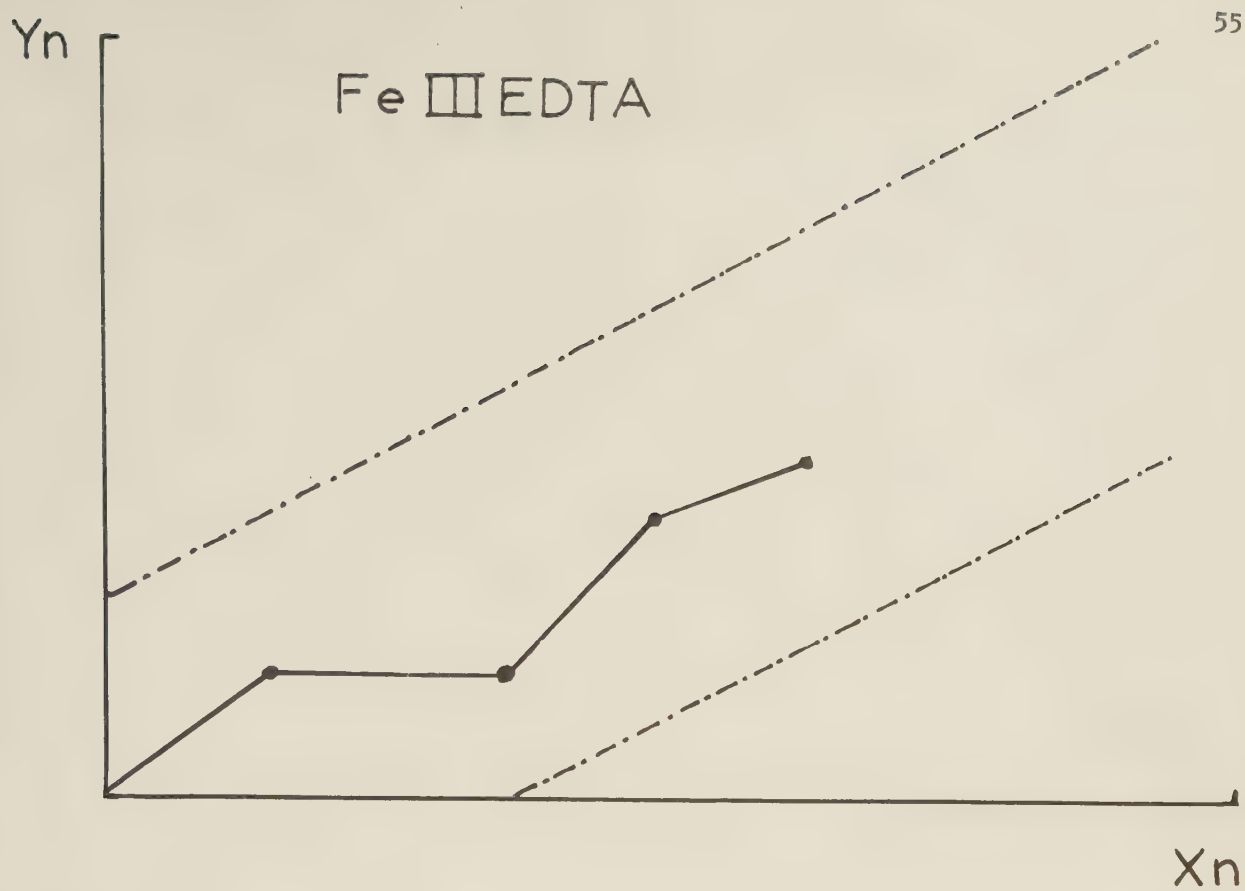


FIGURE 18

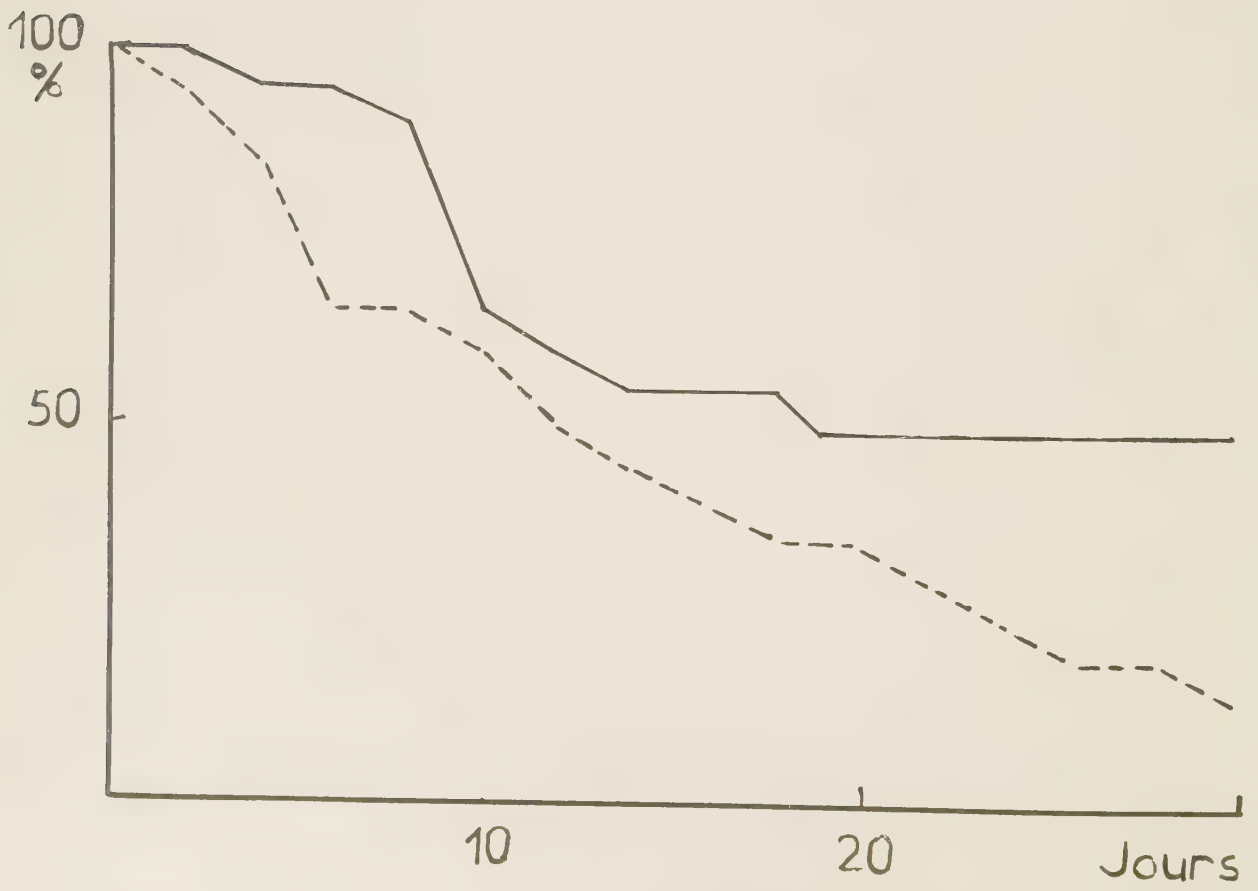
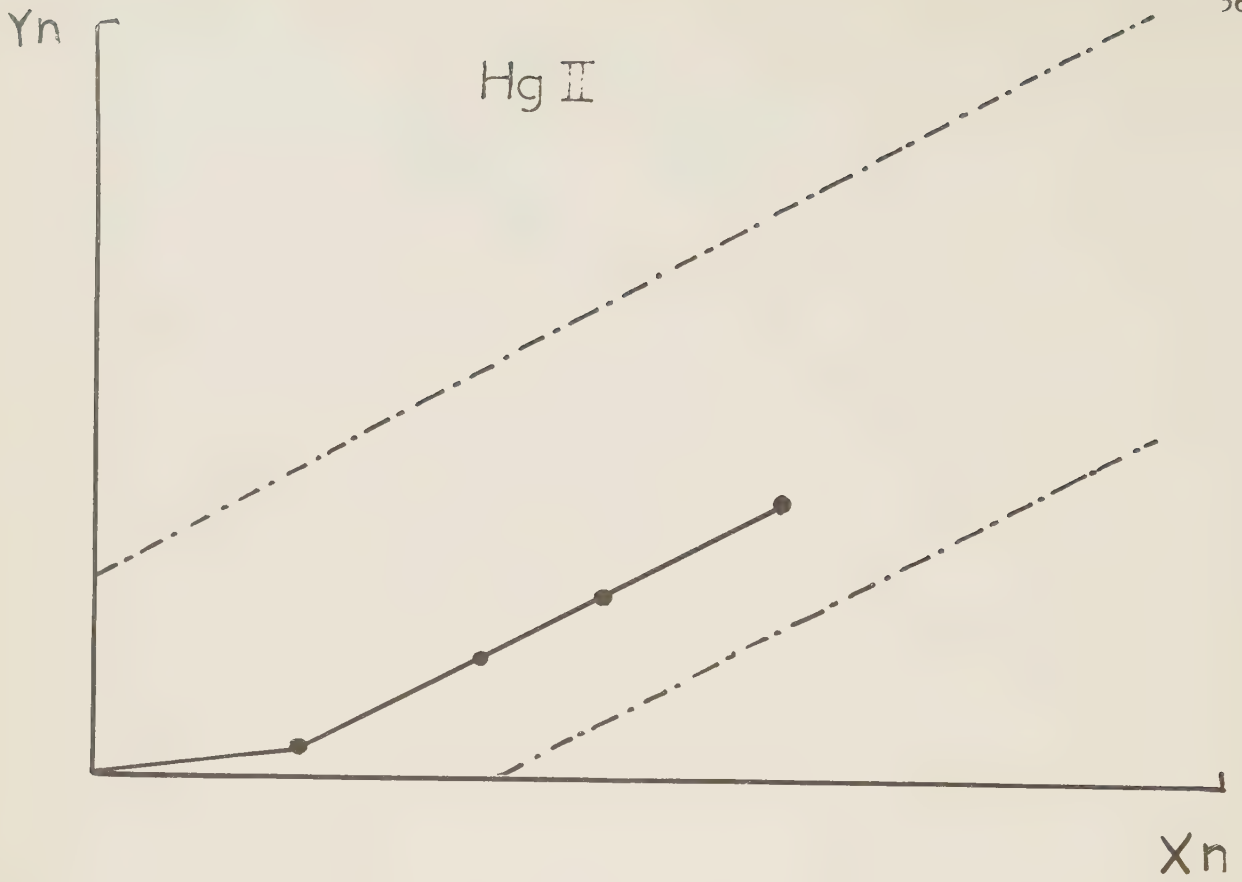


FIGURE 19

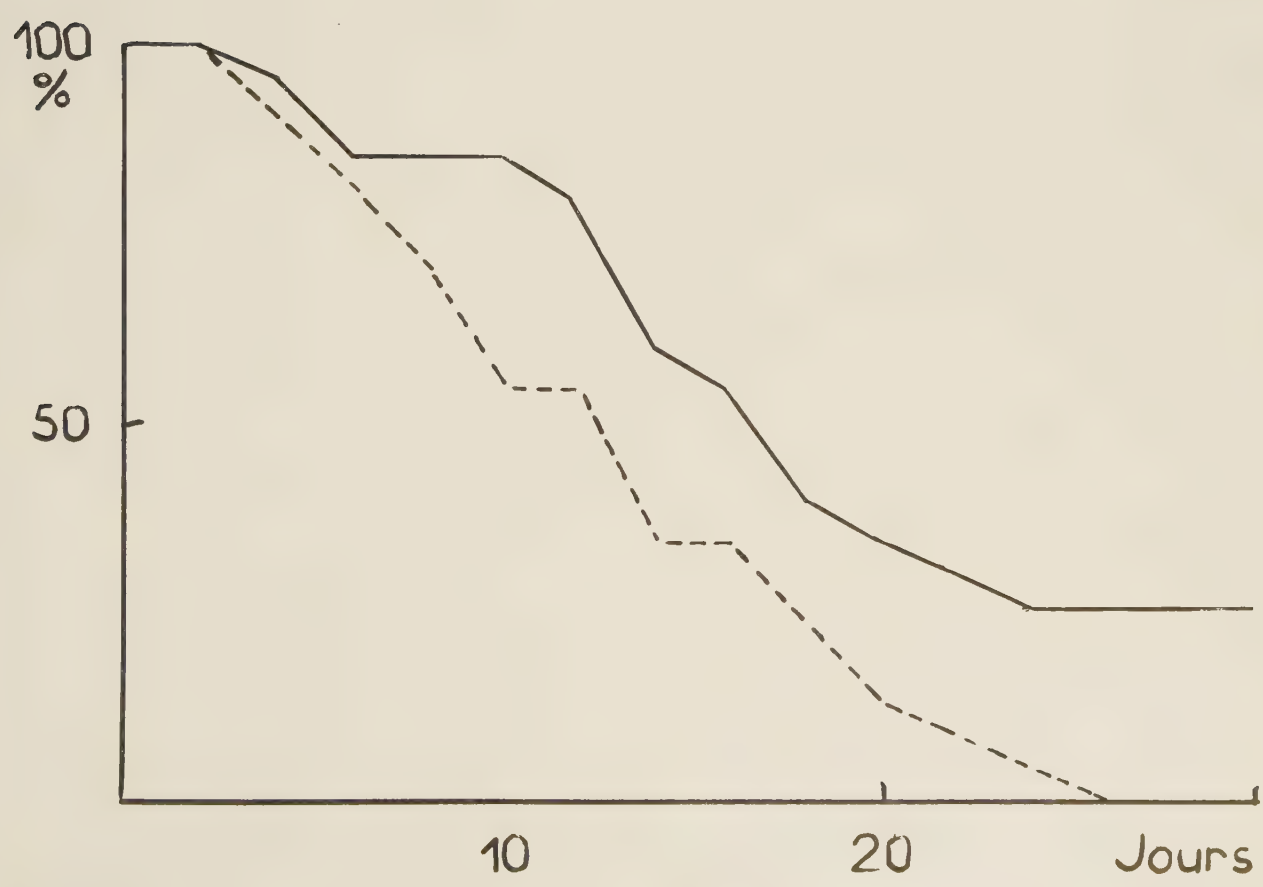
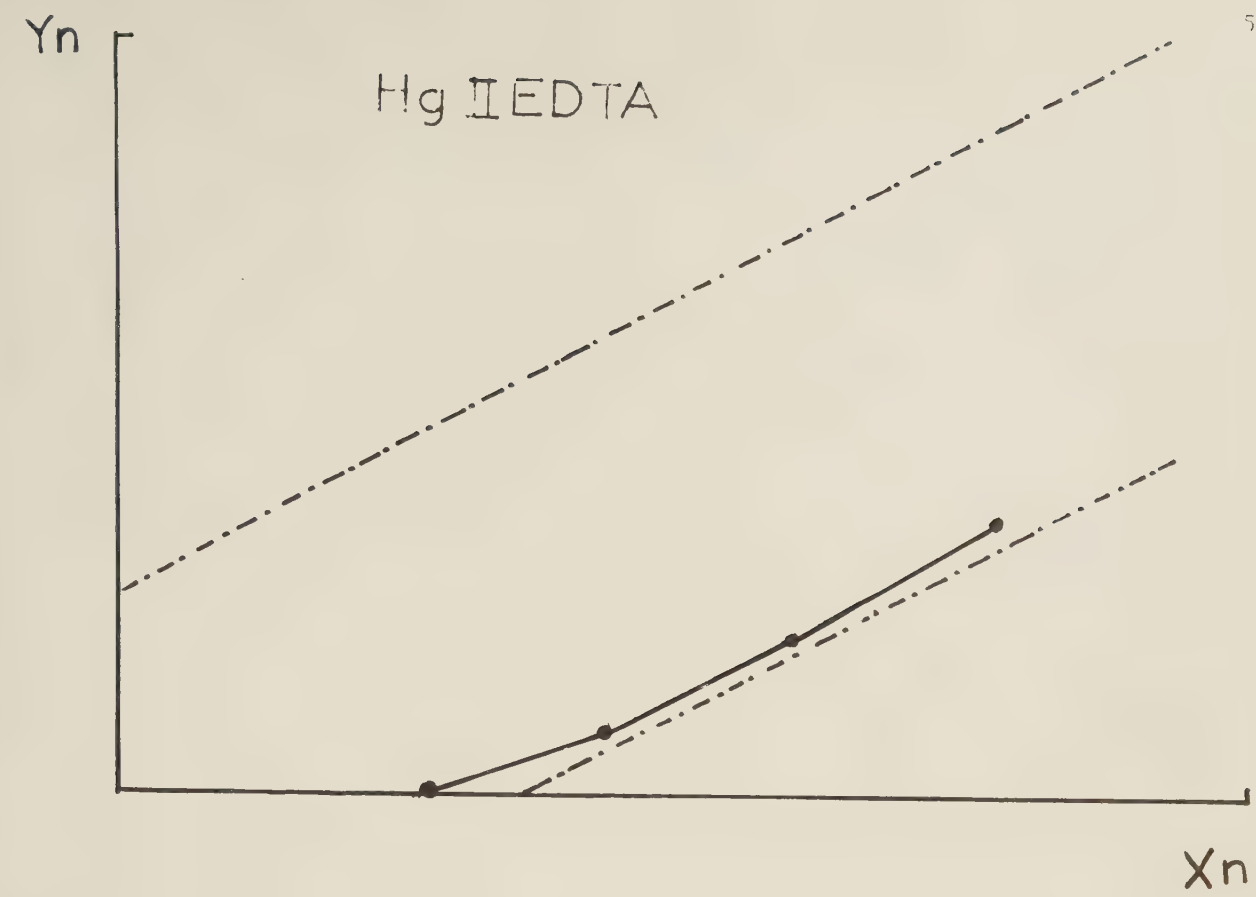


FIGURE 20

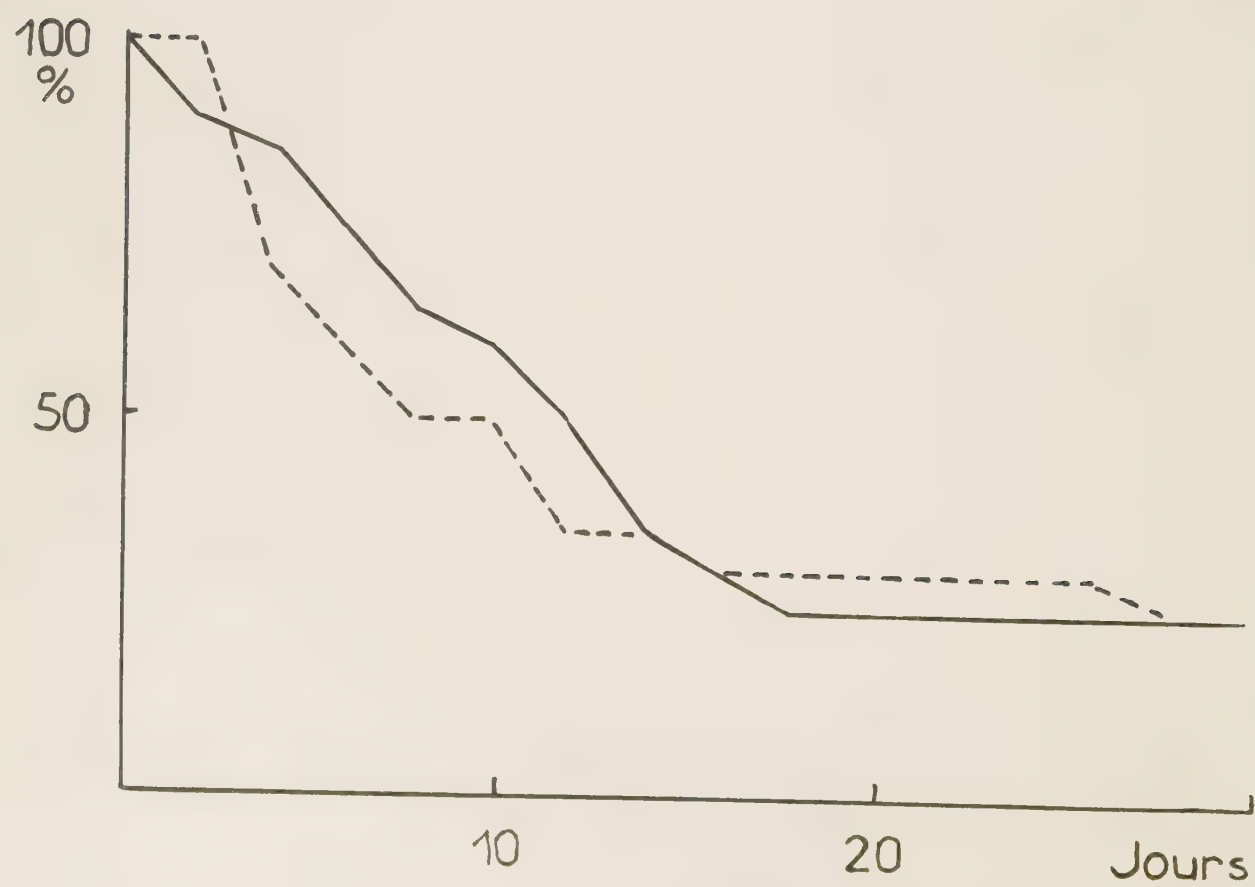
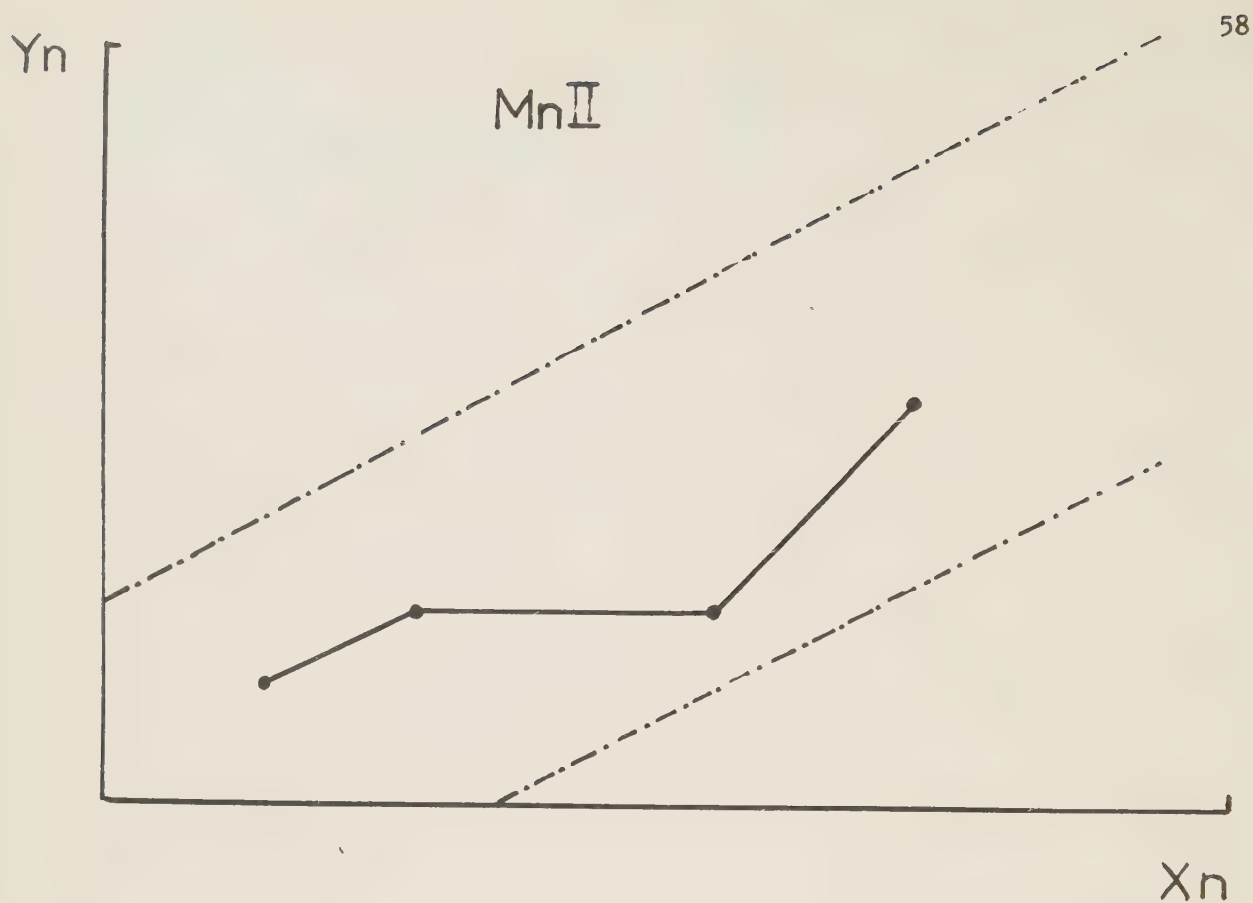


FIGURE 21

Mn II EDTA

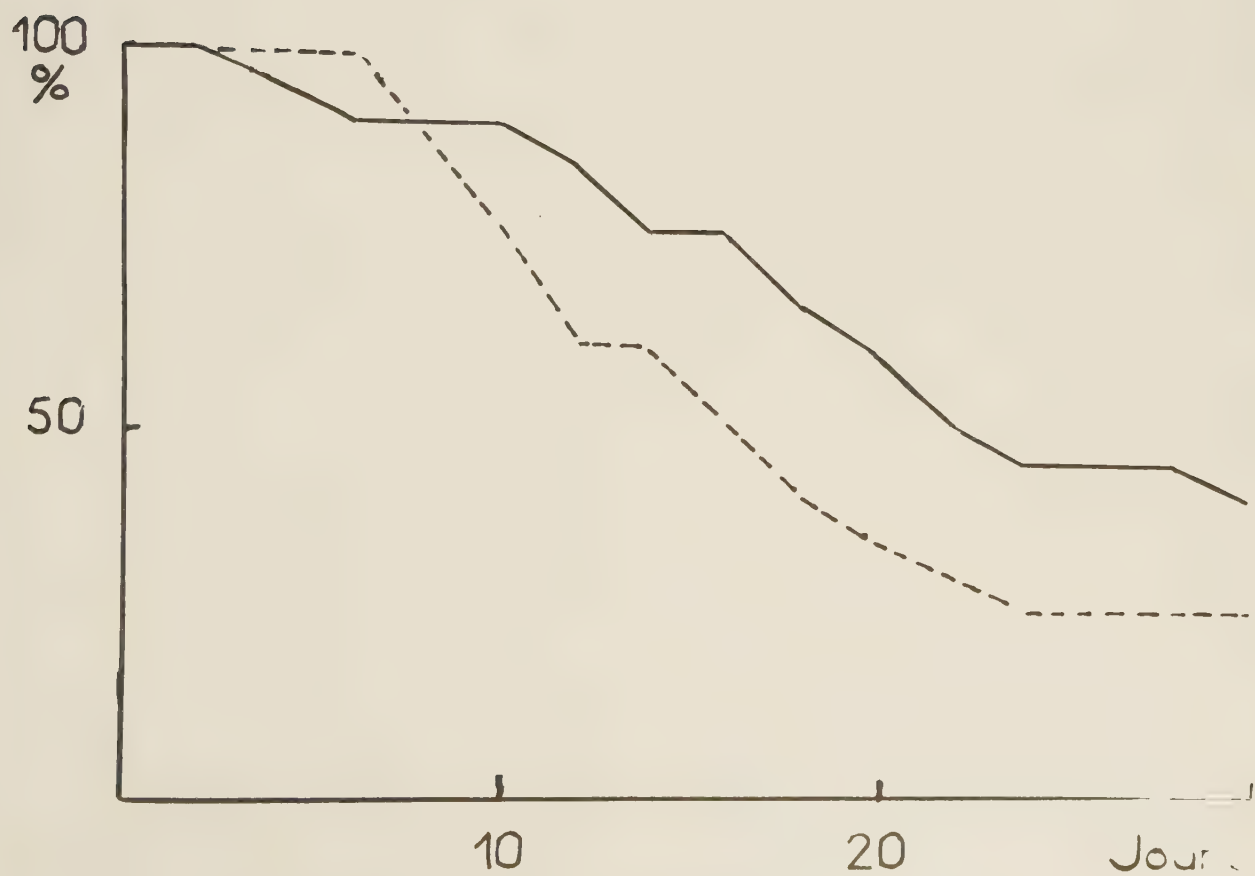
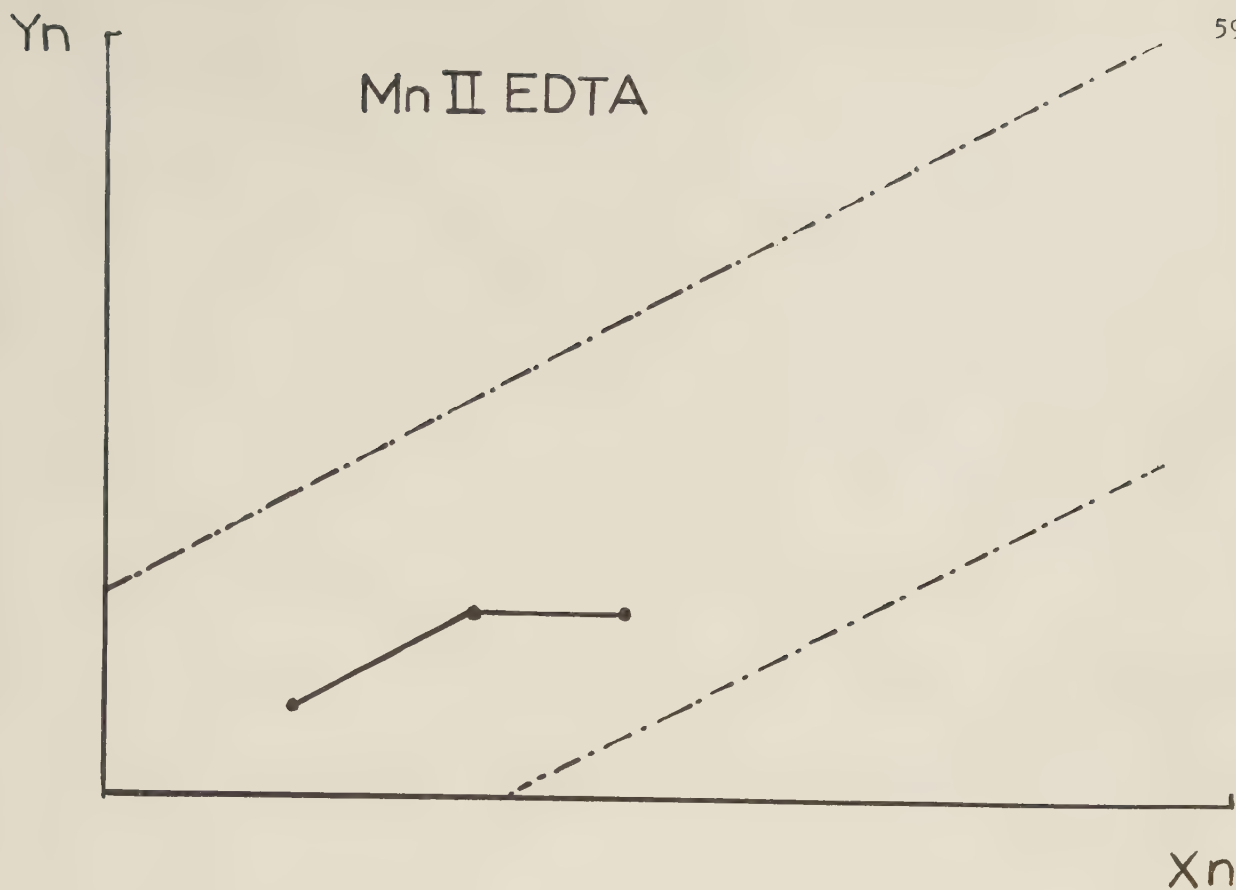


FIGURE 22

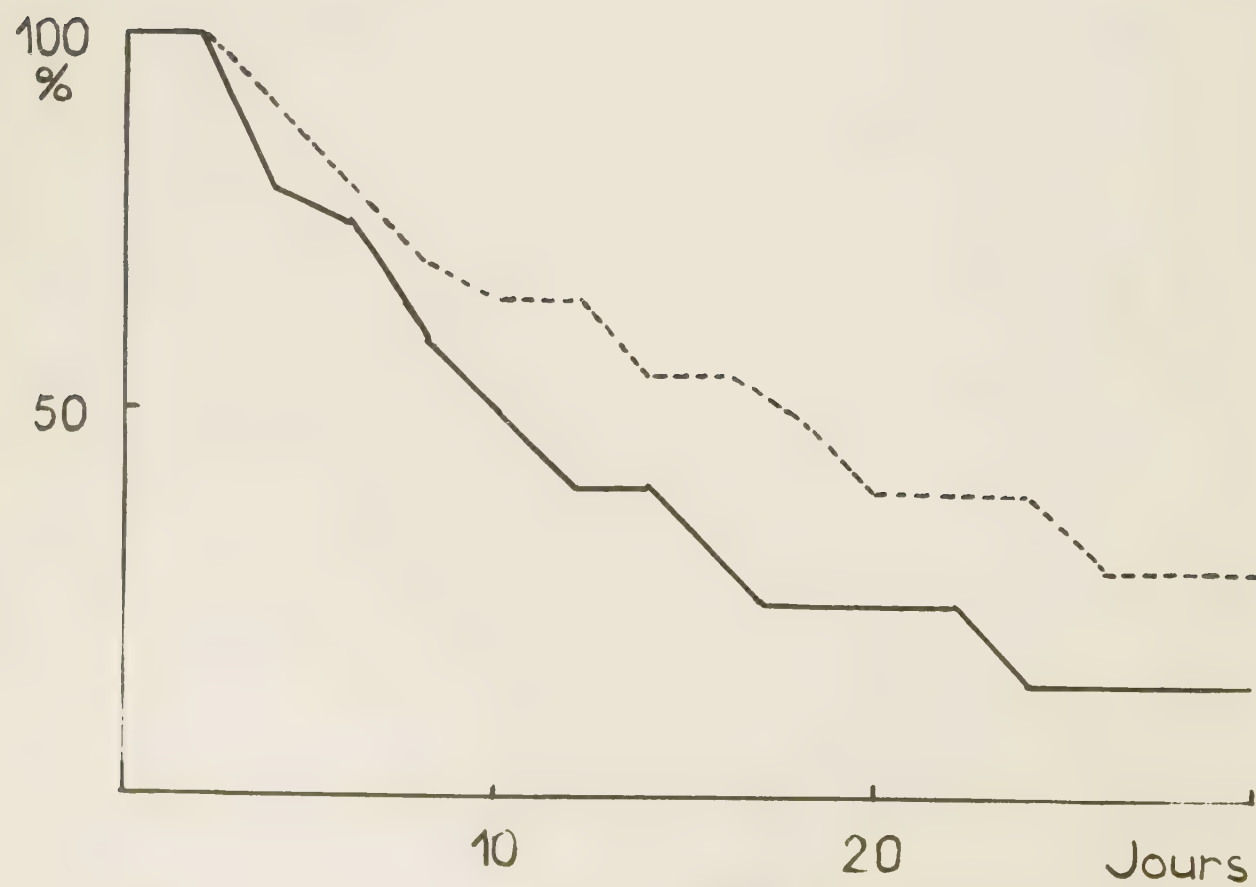
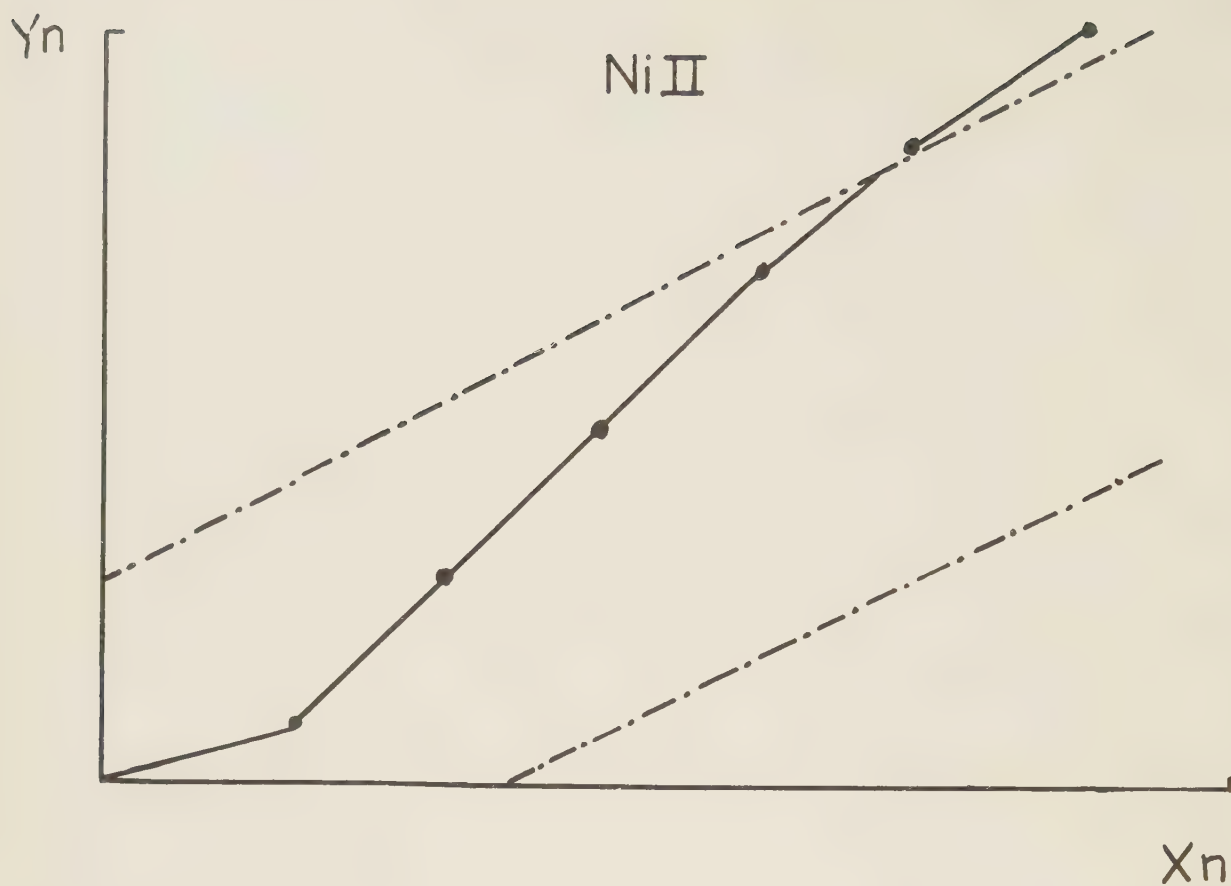


FIGURE 23

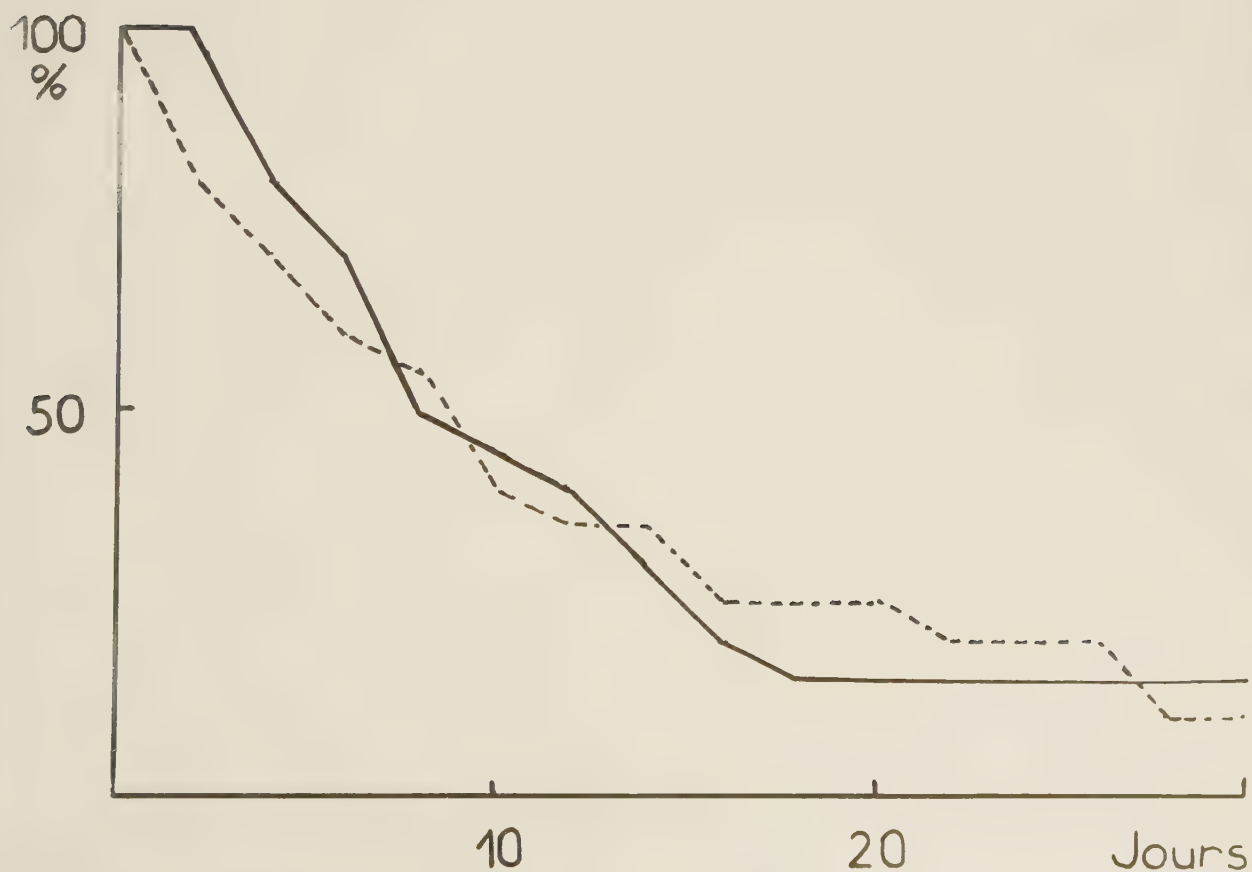
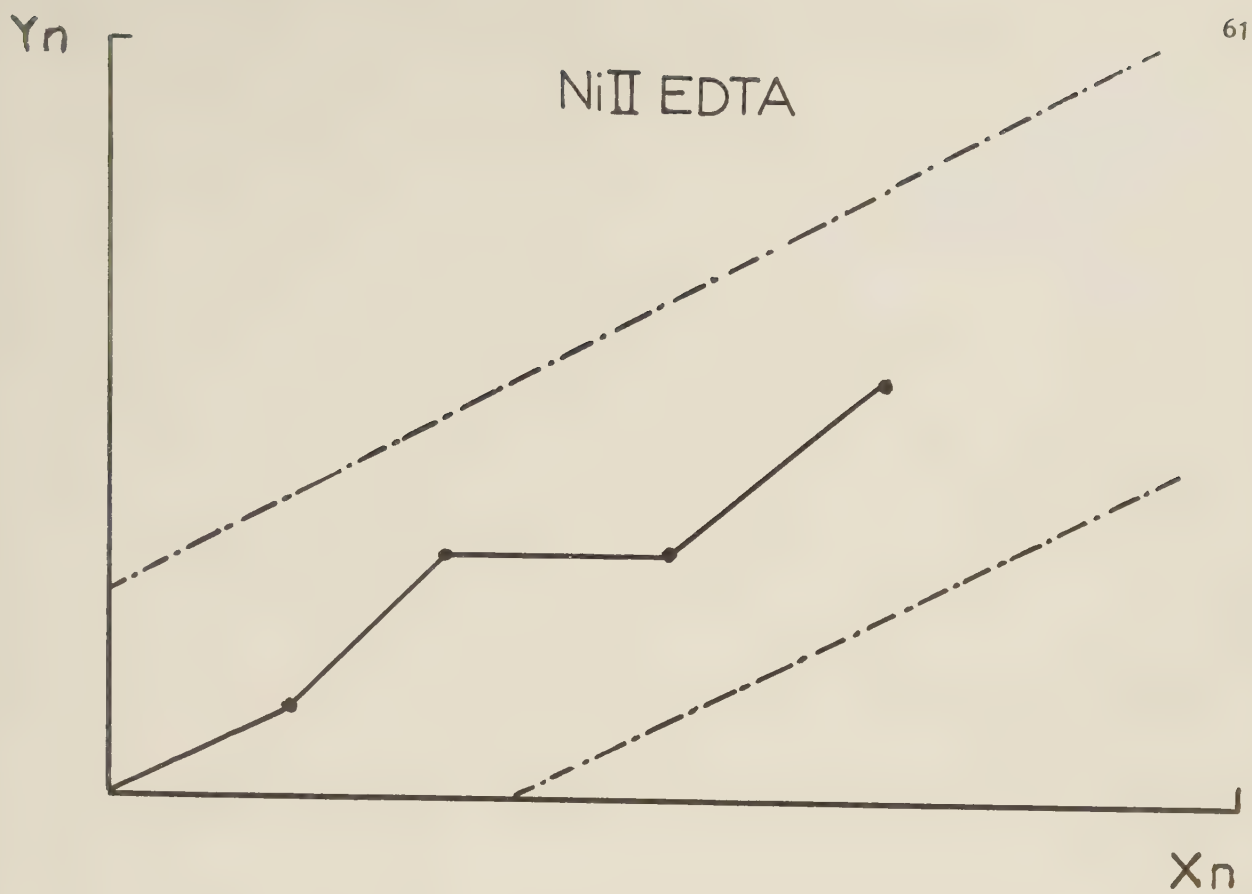


FIGURE 24

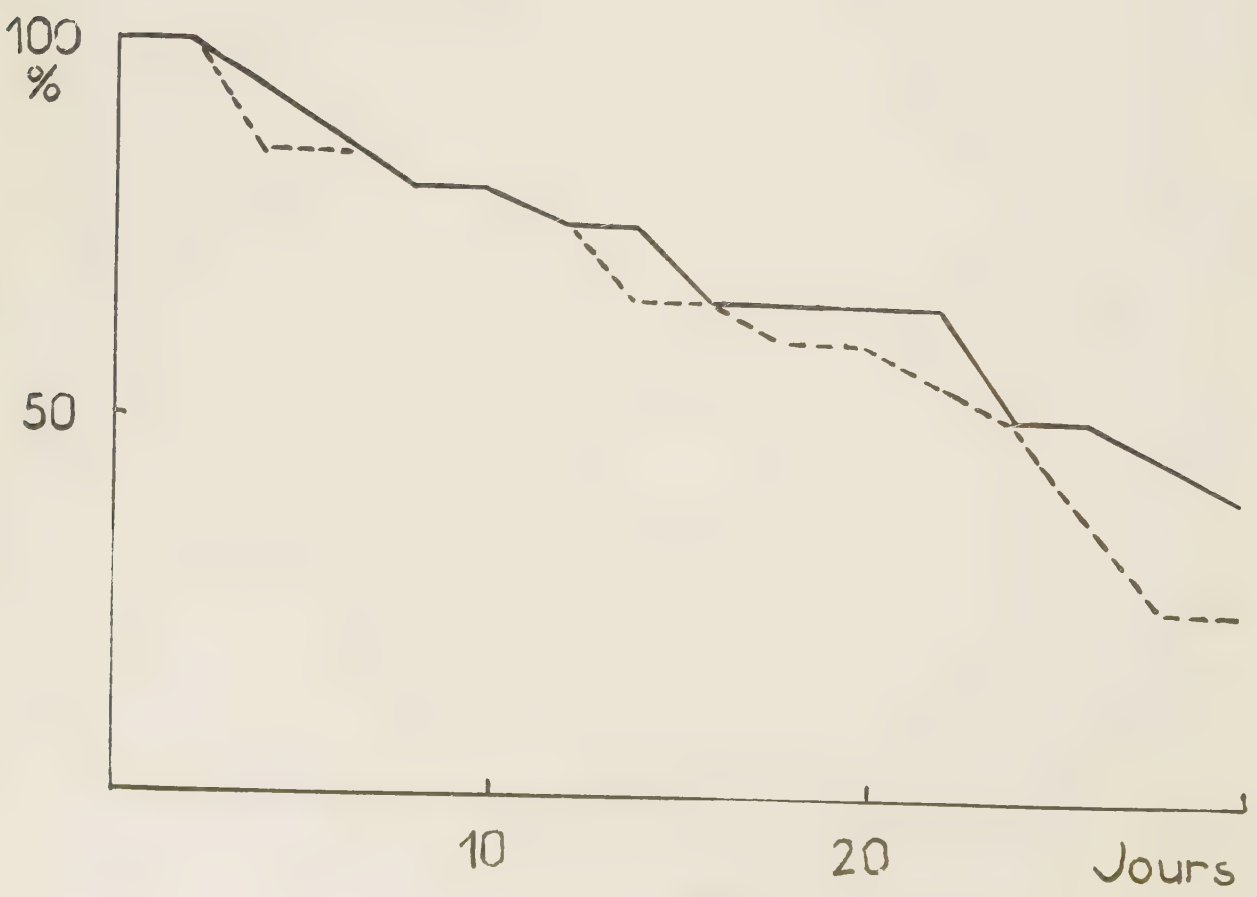
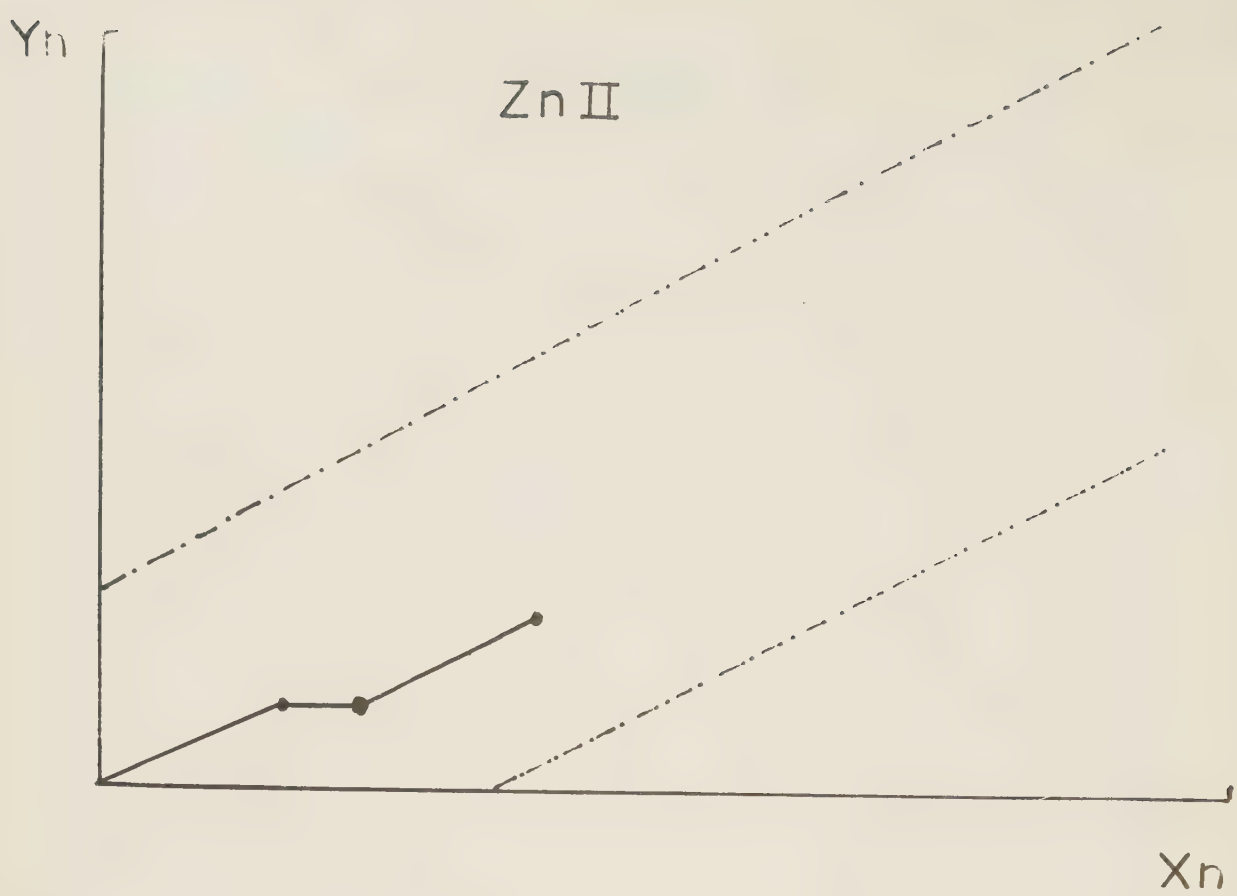


FIGURE 25

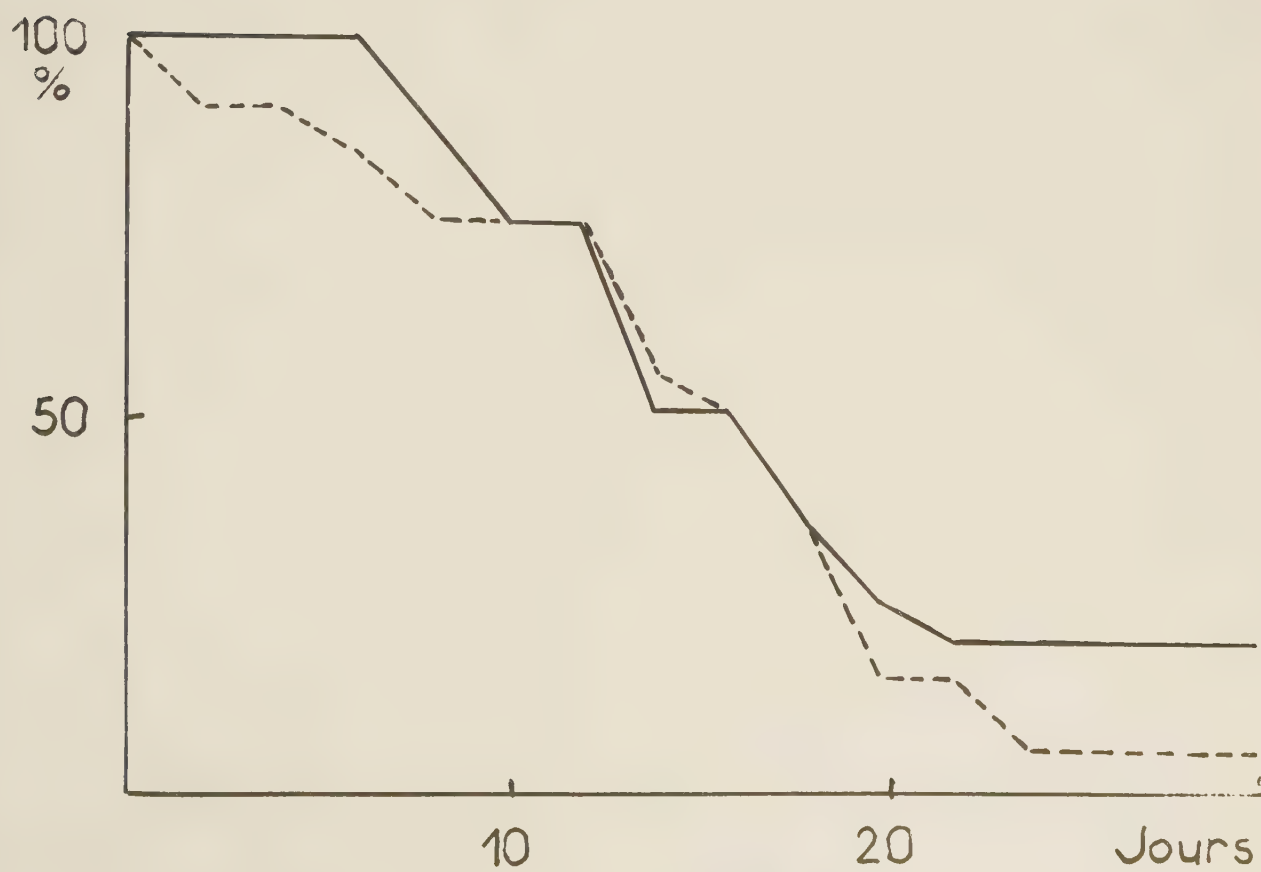
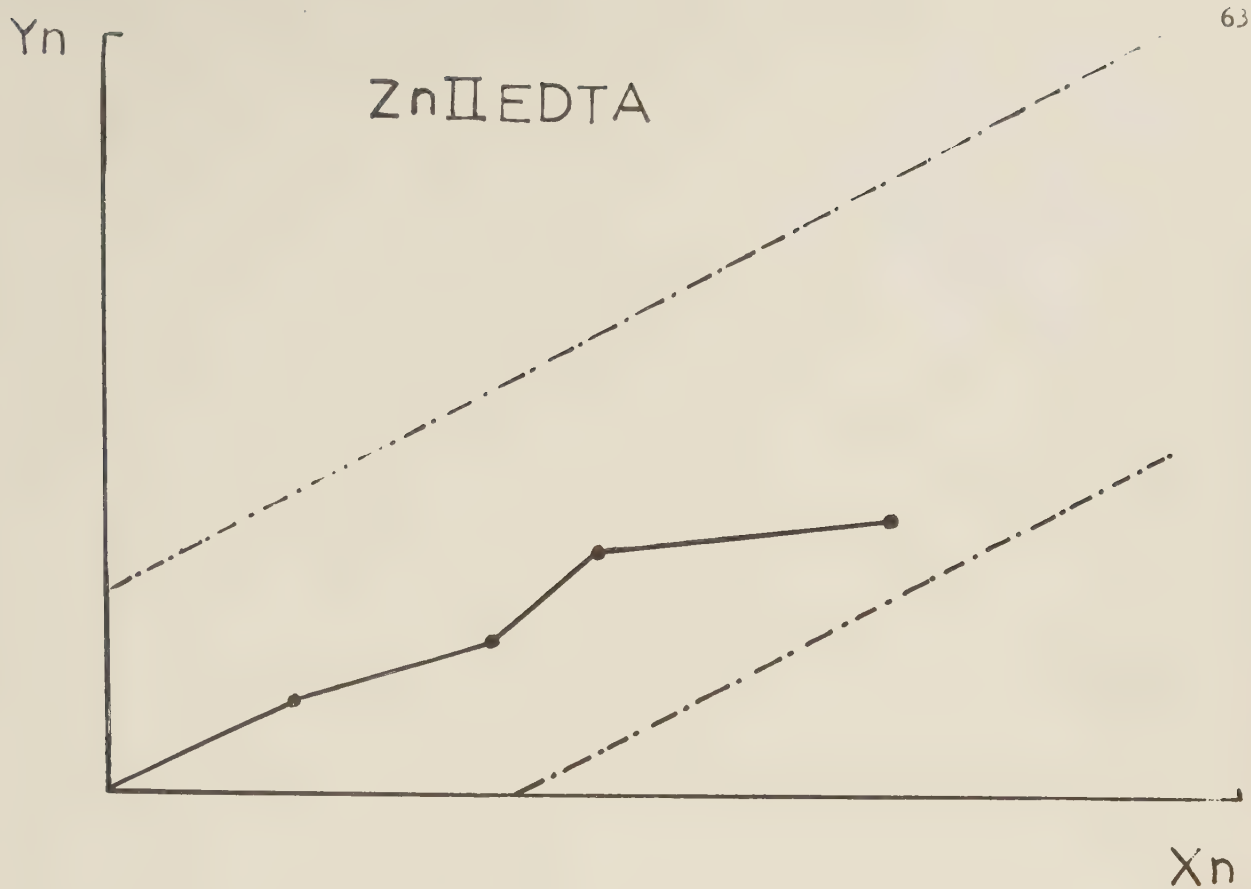


FIGURE 26

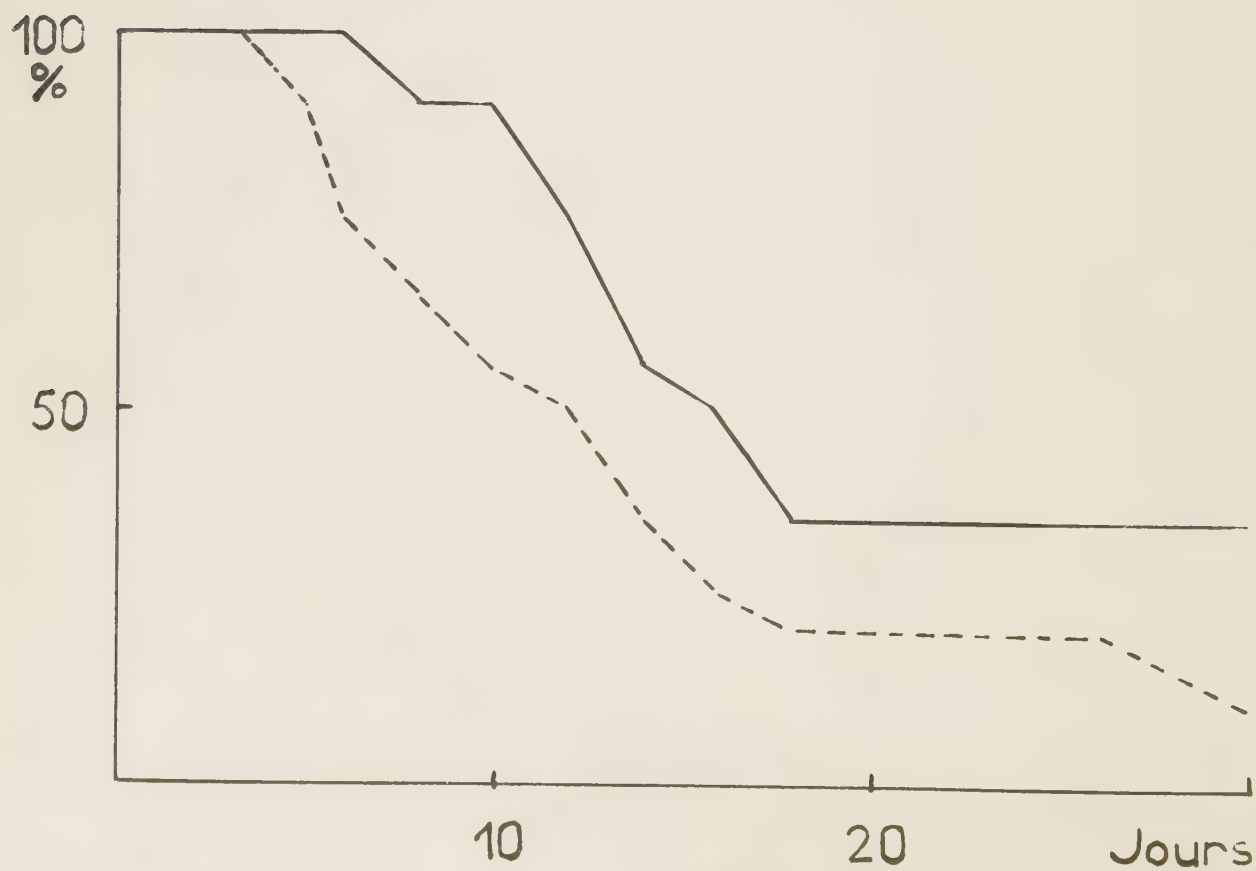
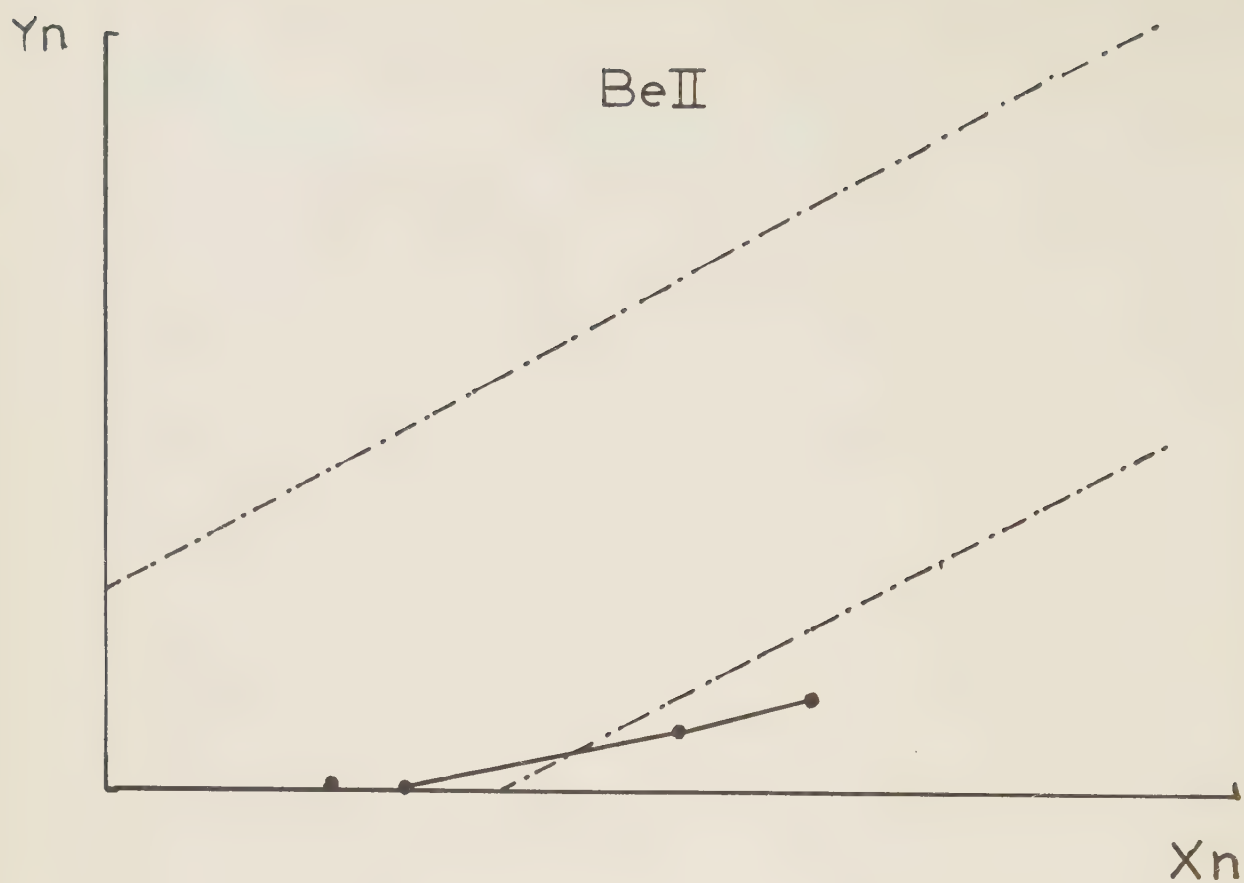


FIGURE 27

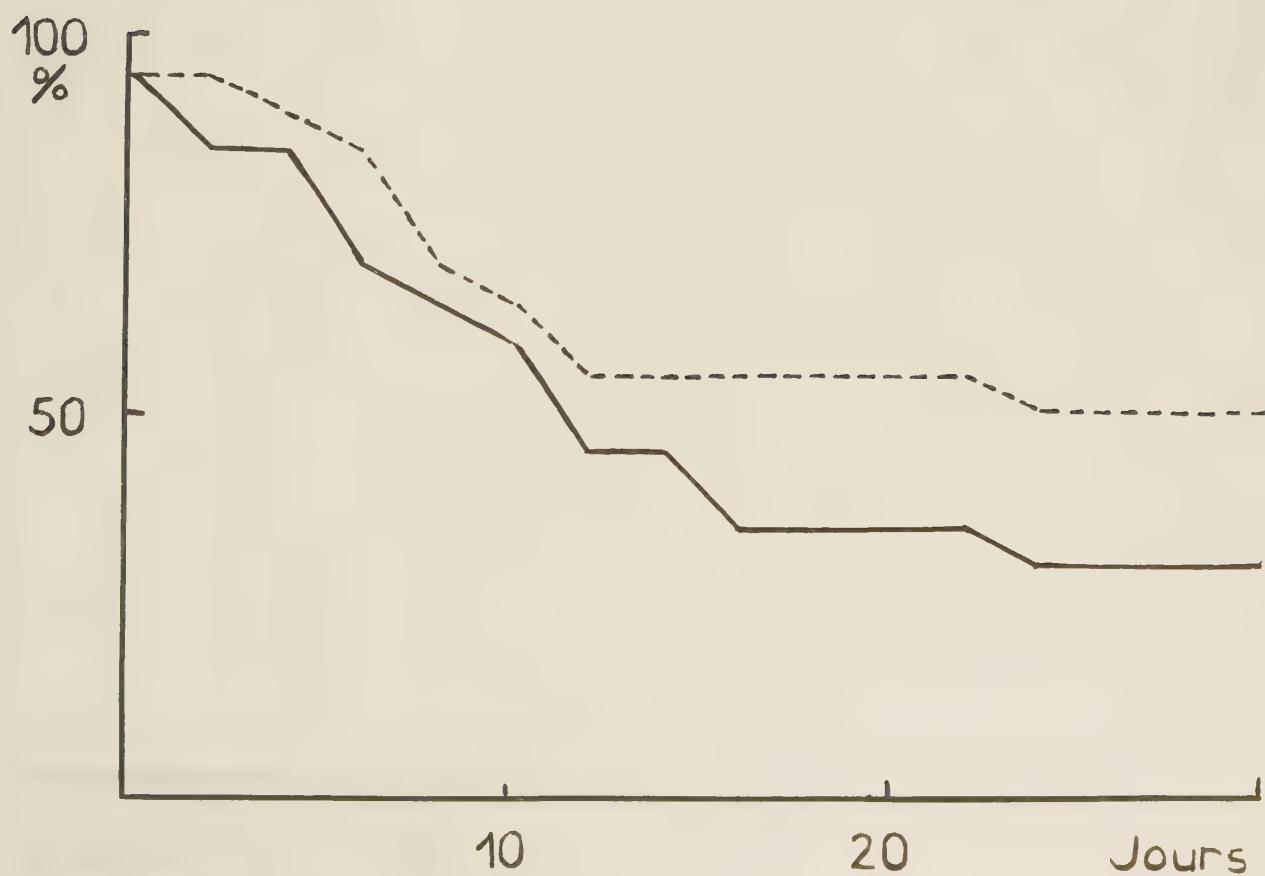
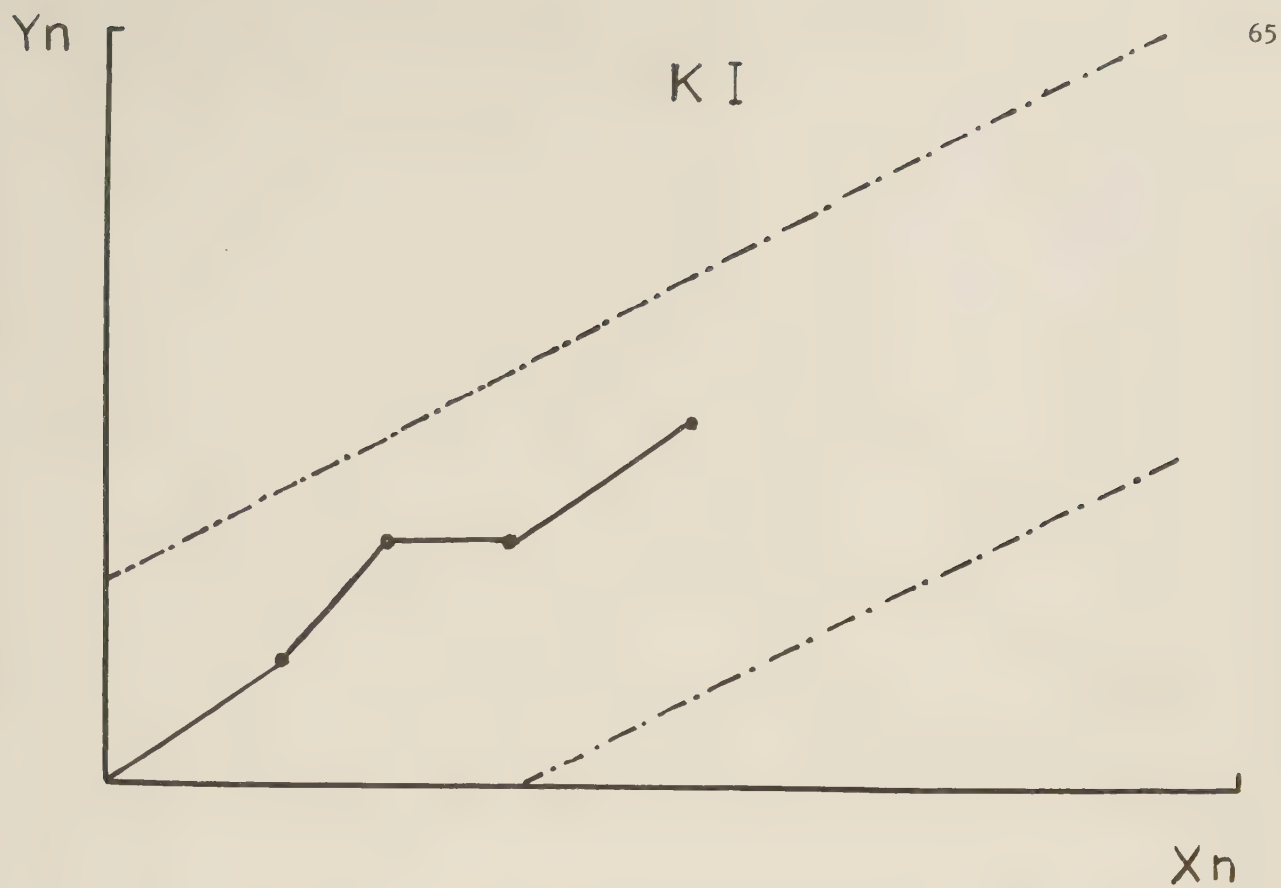


FIGURE 28

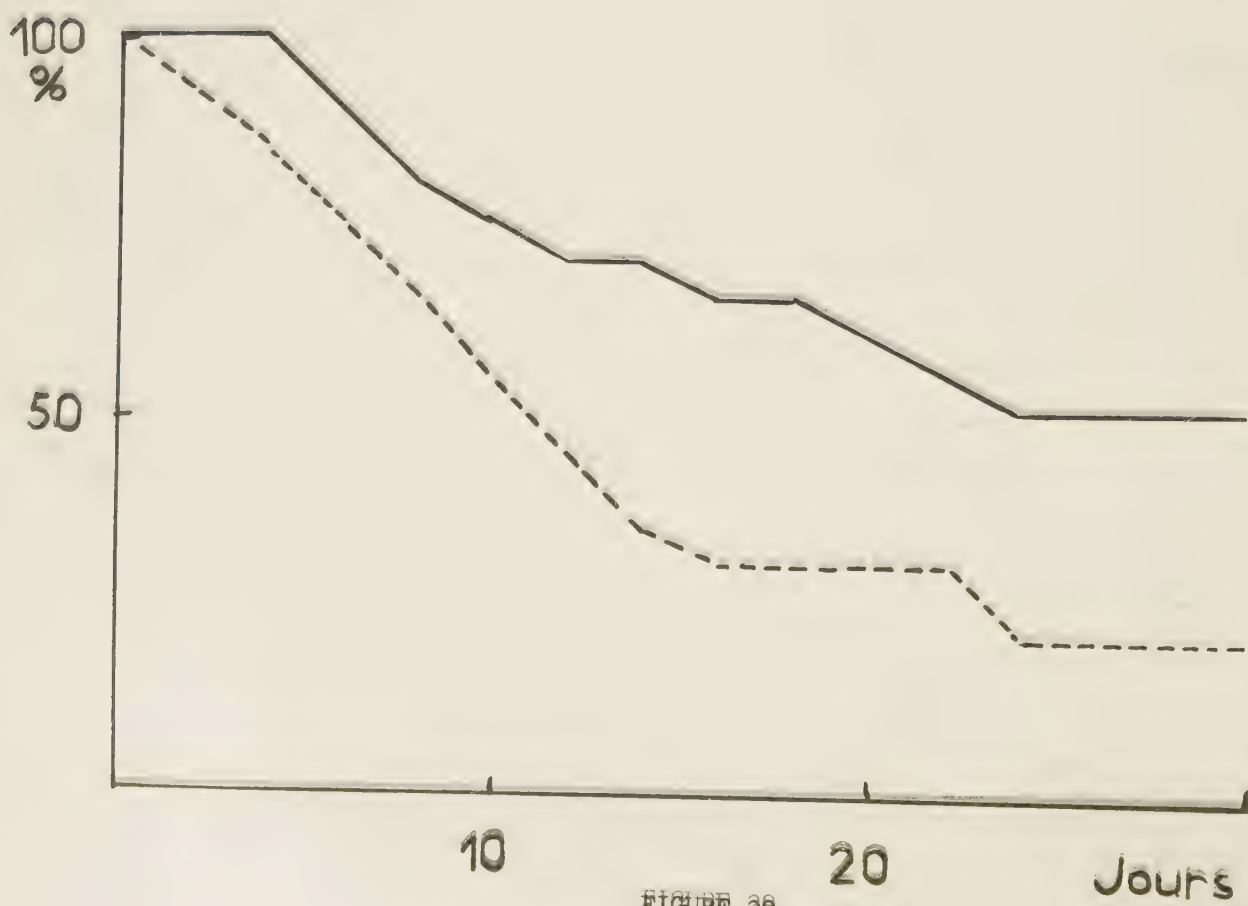
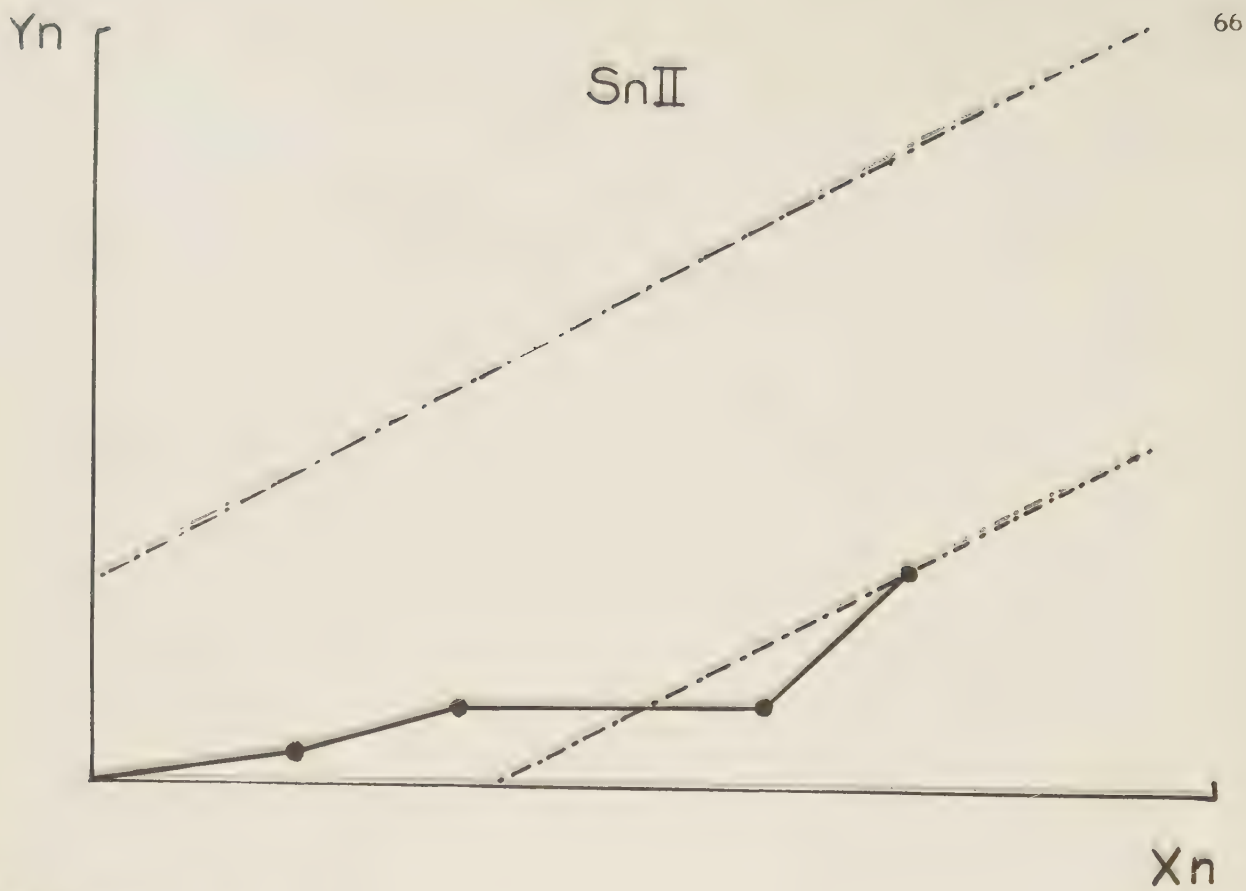


FIGURE 29

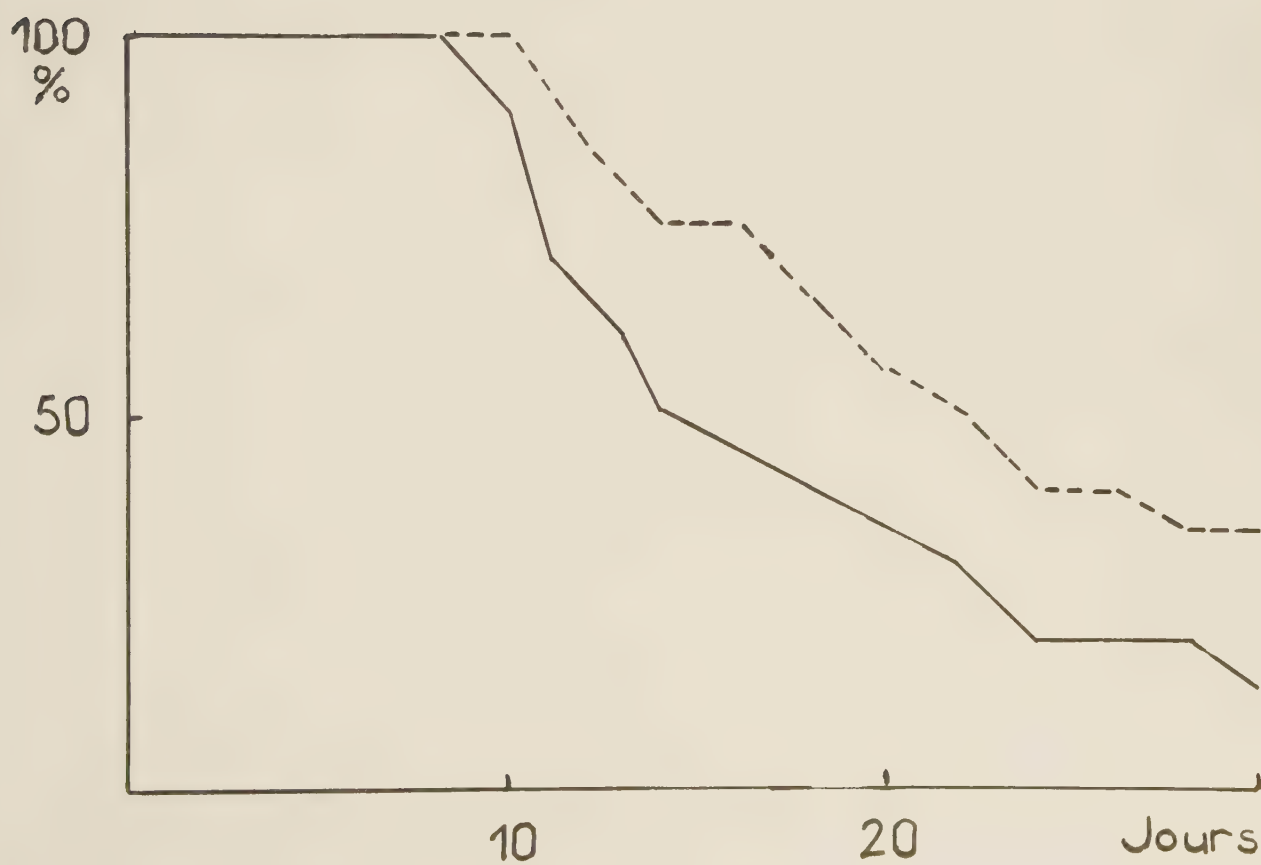
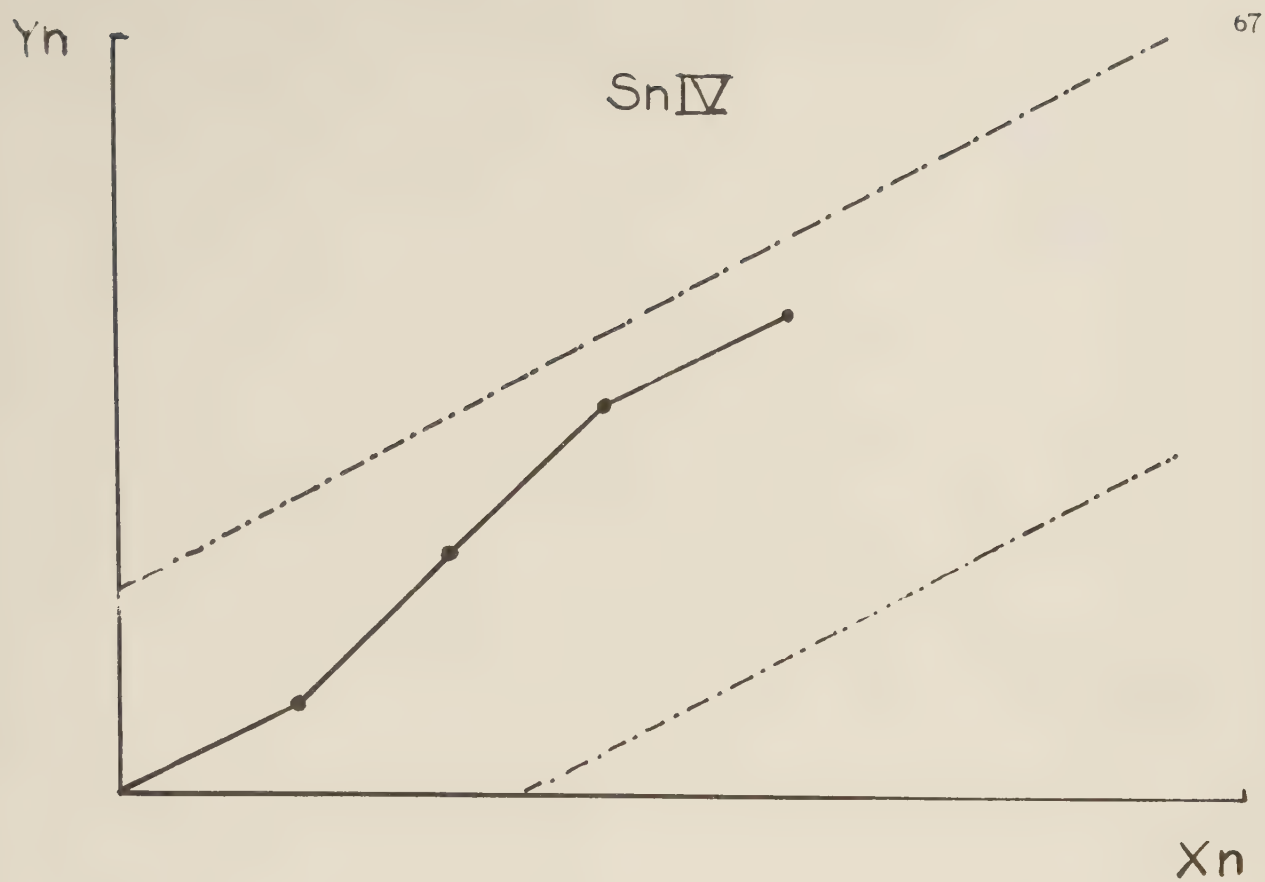


FIGURE 30

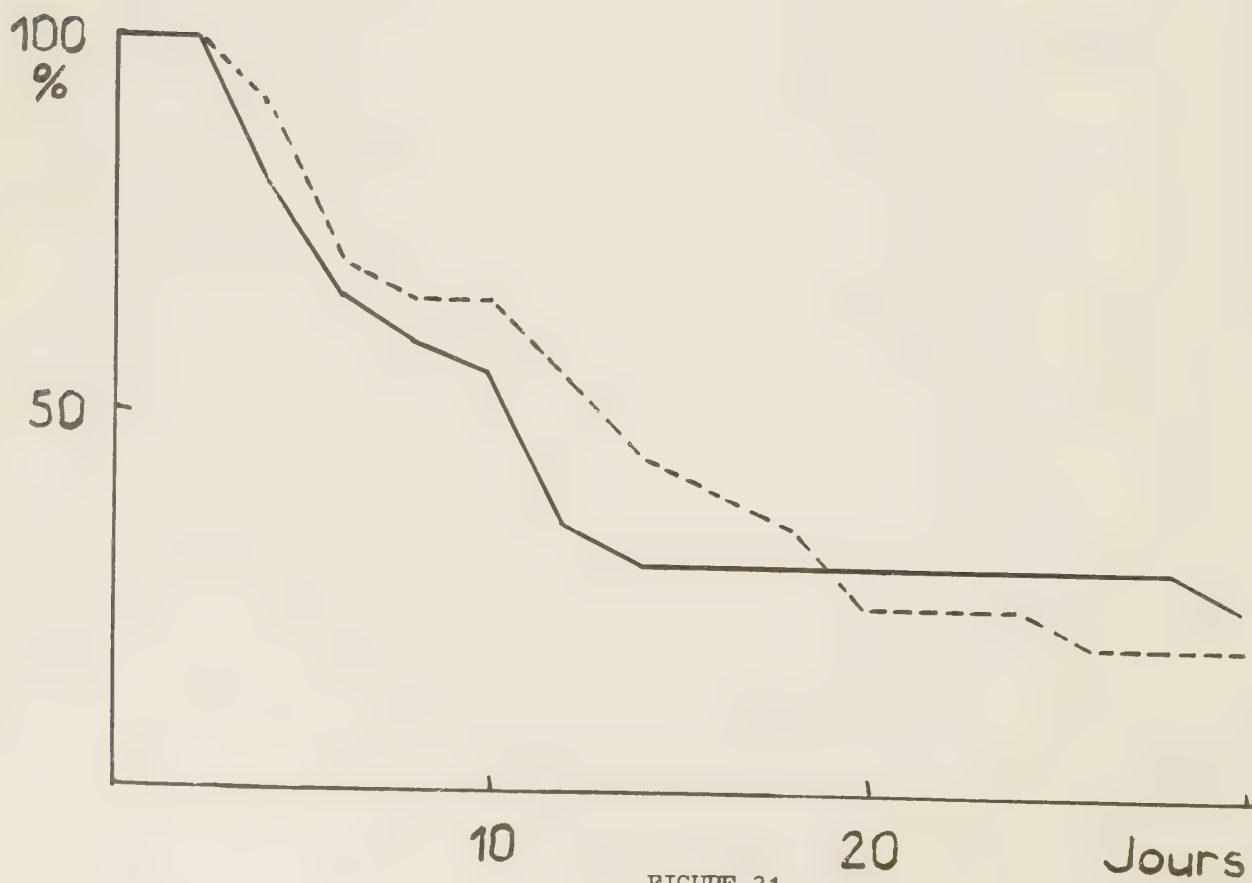
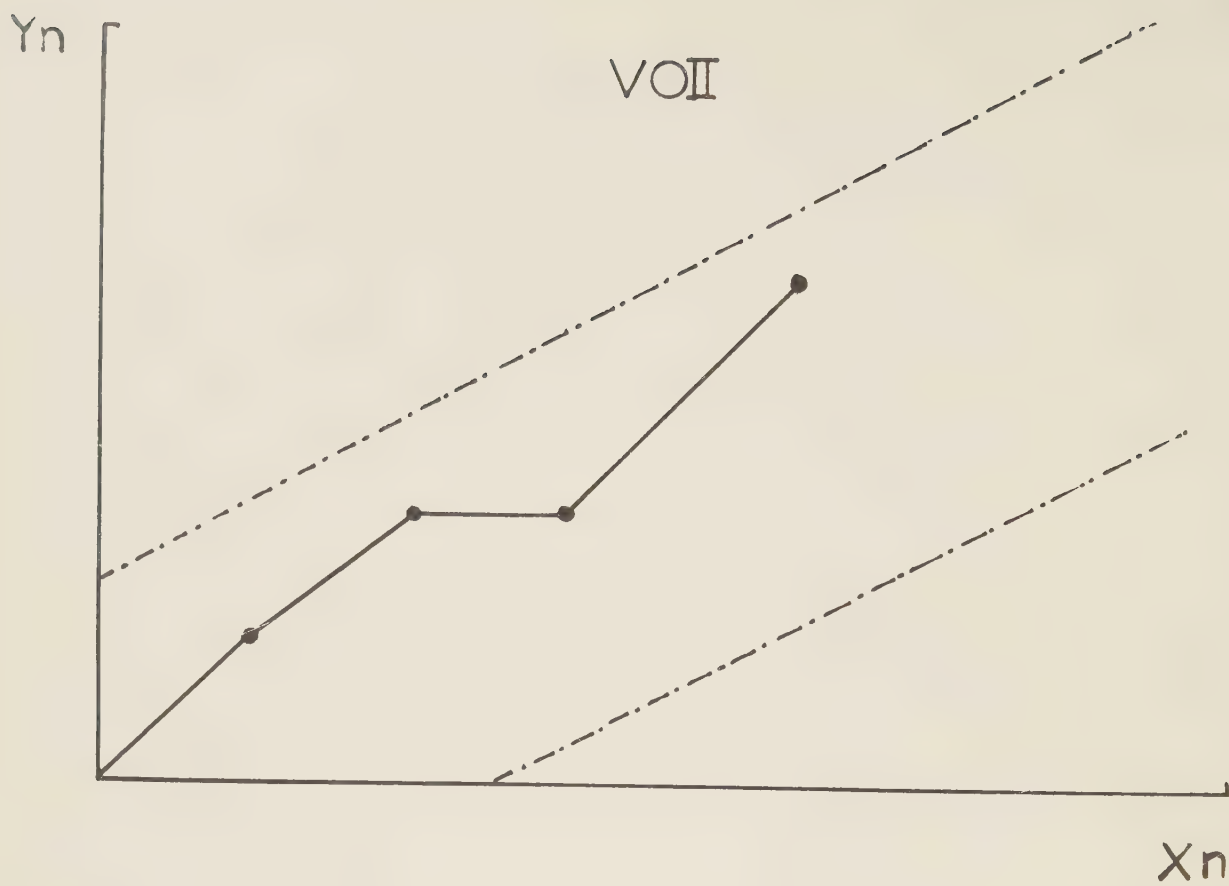


FIGURE 31

II₃ - DISCUSSION DES RESULTATS

II₃ - 1 - Validité des protocoles expérimentaux :

- DL 50/30 :

Notre attention a tout particulièrement été attirée par la valeur de la DL trouvée au cours des essais préalables pour la souche de souris utilisée.

Cette dose (243 ± 15 rads) peut paraître faible; elle a cependant été confirmée par dosimétrie physique et chimique. Des doses létales du même ordre ont du reste été signalées dans la littérature (94, 104) pour cette même souche animale.

On pouvait toutefois se demander si les animaux n'étaient pas porteurs d'une affection latente, responsable après irradiation d'une augmentation de la létalité. Une telle éventualité semble devoir être écartée :

- les essais effectués sur les souris irradiées et non traitées (injections de ClNa isotonique), bien qu'étalés sur une année, ont conduit à des résultats très concordants;
- la létalité a été pratiquement nulle dans des lots non irradiés, qui ont fait l'objet pour chaque série expérimentale d'une surveillance particulière;
- il n'a été constaté aucune corrélation entre la létalité et le pouvoir antiseptique des composés administrés.

Nous n'avons donc pas cru devoir associer à l'irradiation un traitement par antibiotiques comme le préconisent quelques auteurs; une telle pratique ne peut que rendre plus délicate l'interprétation des résultats.

Par contre, parmi les facteurs susceptibles de modifier la radiosensibilité, il ne nous paraît pas inutile de rappeler :

- la durée de l'irradiation : nous avons effectué tous ces essais à un débit constant de 11,4 rads/mn ce qui correspond à un temps d'irradiation de 30 mn au niveau de la DL 70/30; l'influence du débit de la dose sur la létalité a été signalée par plusieurs auteurs (37, 66, 104).

- DL choisie :

Les essais ont été réalisés avec une dose de 343 rads qui correspond à la DL 70/30. Ce choix nous a paru justifié pour juger des effets radio-protecteurs ou radiosensibilisants éventuels des produits expérimentés, et les conditions de l'irradiation sont telles qu'on peut estimer à 5 p. 100 au plus les variations de dose d'un essai à l'autre. Au surplus, témoins et traités ont été irradiés chaque fois simultanément dans les mêmes conditions expérimentales, la géométrie des sources assurant un champ parfaitement uniforme.

Nous n'ignorons pas que les DL 99/30 ou 100/30 sont généralement préconisées pour l'étude des radioprotecteurs et ces doses doivent être expérimentées dans le cas des éléments ayant déjà conduit à des résultats positifs.

- Posologies :

Les essais effectués avec des composés organiques le sont en général à des doses correspondant à la moitié des DL 50 de ces composés.

L'existence de synergies toxiques nous a amenés à expérimenter systématiquement les sels et chélates métalliques à une dose plus faible (1/5 de la DL 50). Pour 11 cations qui nous ont paru présenter à cette dose une activité radioprotectrice (Ni) ou tout au moins une tendance à un tel effet, des essais comparatifs ont été réalisés à doses croissantes (1/5, 1/3, 1/2 DL 50). Les résultats, réunis dans le tableau III, semblent justifier le choix d'une posologie inférieure à celle qui est classiquement adoptée.

- Mode opératoire :

Tous les composés étudiés, sels ou chélates, ont été injectés

(i-p), comme il est classique 20 à 30 mn avant l'irradiation. Toutefois des essais ont été menés sur les 11 cations qui avaient présenté, semble-t-il, une activité favorable en les injectant 20 à 30 minutes après irradiation.

Les résultats, réunis dans le tableau IV', peuvent être considérés comme négatifs.

II₃ - 2 - Résultats et essais d'interprétation. :

L'analyse séquentielle que nous avons utilisée dans les conditions définies par KIMBALL pour l'étude des radioprotecteurs et selon la modification apportée par GART est un procédé rapide, économique, qui paraît tout particulièrement valable comme test de prospection (*). Ce mode de calcul statistique ne conclut à un résultat positif ou négatif qu'après un nombre d'essais successifs. Des deux méthodes utilisées, la plus sévère semble être celle préconisée par KIMBALL.

Nous avons en outre tenu compte de deux données supplémentaires :

- le pourcentage de survie au 30ème jour dont l'interprétation est discutable dans le cadre de nos essais en raison du nombre limité de souris utilisées (**);
- le temps de survie médian (TS 50) qui permet d'objectiver une mortalité plus différée (16 ± 5 jours).

Ces deux données sont bien souvent les seuls critères retenus pour l'étude de la radioprotection chimique (104, 51).

L'ensemble des résultats obtenus avec les cations expérimentés

* Cette méthode est très utilisée en Amérique, tout particulièrement par l'équipe de DOHERTY-SHAPIRA.

** Il faut noter cependant que les essais de "screening" effectués par le USAF Radiations Laboratory de l'Université de Chicago et réunis dans un rapport d'avril 1962 (51) sont basés uniquement sur le pourcentage de survie et le TS 50 bien que le nombre d'animaux soit pour chaque essai limité à 10.

est présenté dans les figures 32, 33 et 34. Les valeurs suivantes ont été prises comme critères :

- figure 32 : $\sum (E_n - C_n)$ de la méthode de KIMBALL (valeurs limites $\pm 5,4$)
- figure 33 : $\sum Z (E_n)$ de la méthode de GART (valeurs limites $\pm 0,9$)
- figure 34 : T S 50 (valeurs limites ± 5)

Ces valeurs sont portées en ordonnée, les limites supérieures ou inférieures définies au chapitre II₃ étant représentées par deux droites parallèles à l'axe des abscisses. Le numéro atomique Z est porté en abscisse.

La confrontation de ces graphiques montre que le nickel est le seul élément radioprotecteur avec ces trois critères. Toutefois les cations K, V, Cr, Sn (IV) qui ne sont pas retenus selon KIMBALL, sont radioprotecteurs si l'on tient compte de l'analyse de GART et des TS 50. Les pourcentages de survie observés (tableau I) semblent par ailleurs confirmer cette activité.

Nous avons déjà signalé (40) que l'ion cuivrique et son chélate à l'EDTA inactifs ou même radiosensibilisants au cours de la première période de la maladie, semblent avoir pour effet de diminuer la létalité dans la seconde phase. Ce fait se trouve objectivé par les résultats représentés dans les figures 13 et 34 et par les pourcentages de survie (tableaux I et II).

Un certain nombre de cations, chélatés ou non à l'EDTA, semblent avoir un effet radiosensibilisant : Al et son chélate (fig. 3 et 4), Be (II) (fig. 3), Ca (EDTA) (fig. 6), Cd (EDTA) (fig. 8), Fe (II) et son chélate (fig. 15 et 16), Hg (II) et son chélate (fig. 19 et 20).

Compte-tenu des doses expérimentées, on peut se demander toutefois s'il ne s'agit pas d'une simple addition de deux effets toxiques bien qu'une telle éventualité soit difficilement admissible pour l'EDTA calcique dont on connaît la parfaite tolérance en essai aigu. On doit noter par ailleurs que l'étain stanneux, moins toxique que l'étain stannique (26, 119) est radiosensibilisant dans les conditions de l'essai, à

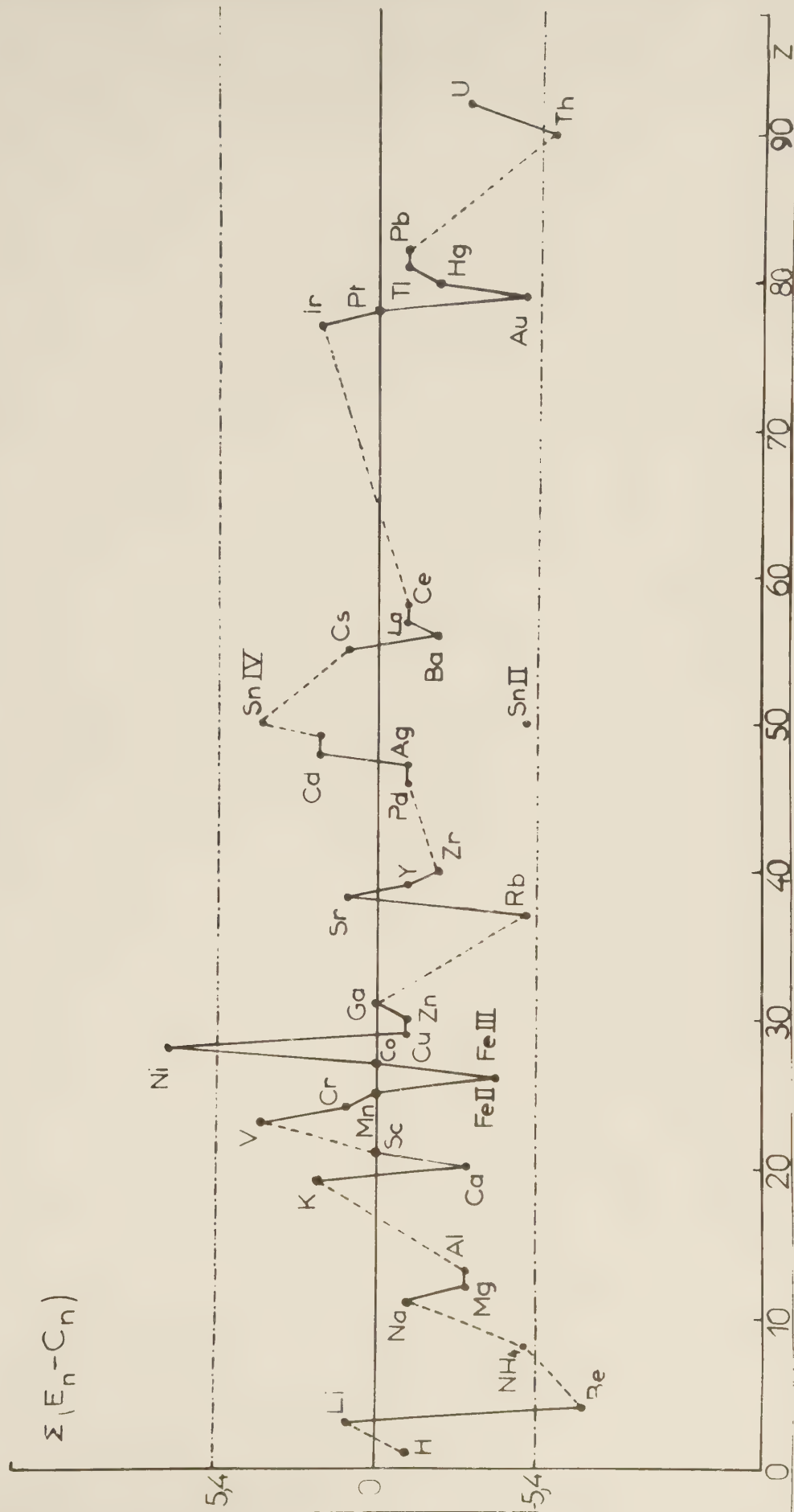


FIGURE 32. Signification statistique des variations de la radio-sensibilité de souris traitées par un ion métallique en fonction du numéro atomique du métal.

En ordonnée, valeur de $\Sigma(E_n - C_n)$ explicitées dans le texte.

En abscisse Z , le numéro atomique de l'élément considéré.

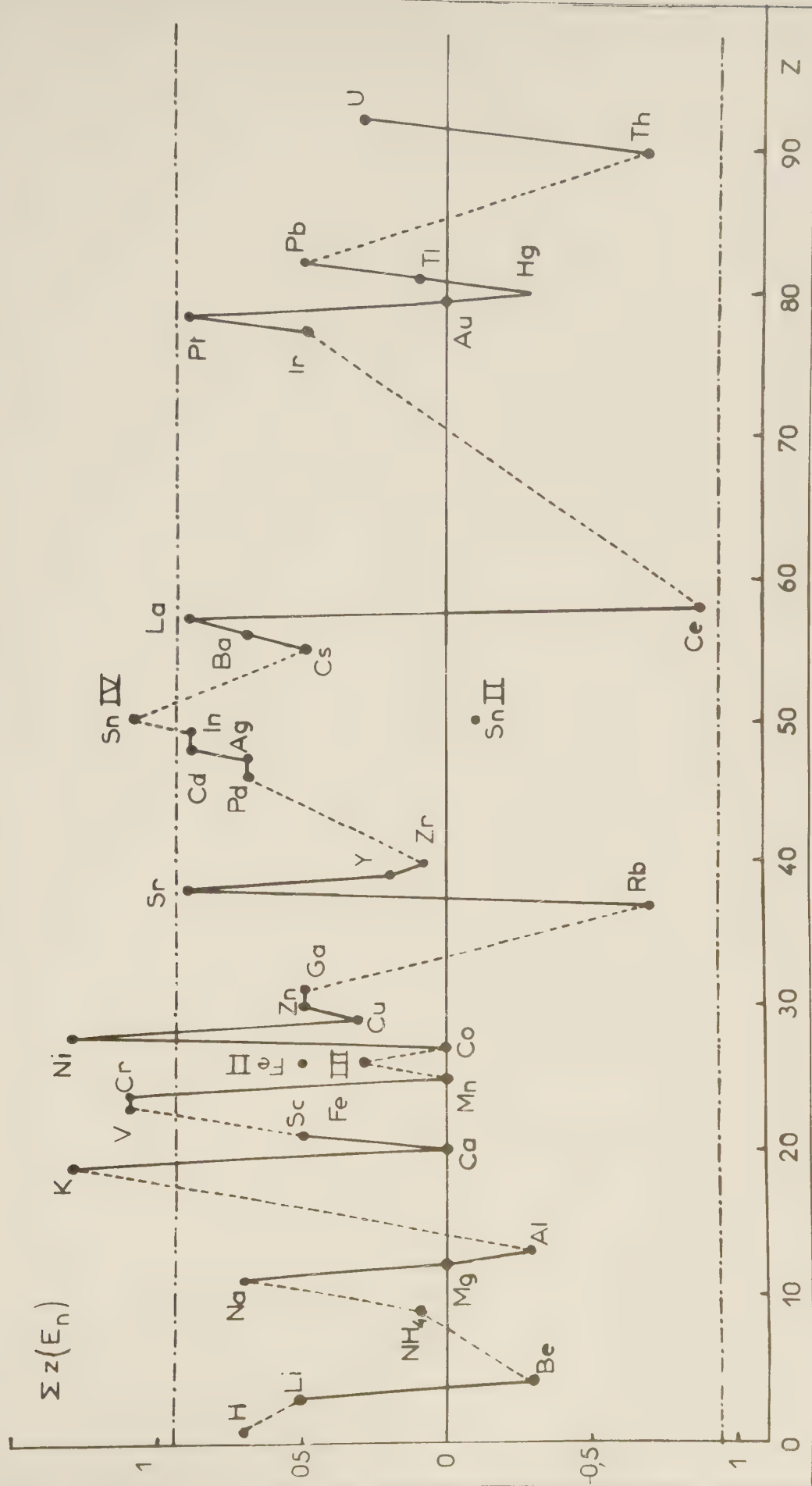


FIGURE 33 - Signification statistique de la radiosensibilité de souris traitées par un ion métallique en fonction du numéro atomique du métal.

En ordonnée, valeur de $\Sigma z(E)$ explicitées dans le texte en abscisse Z , le numéro atomique de l'élément considéré.

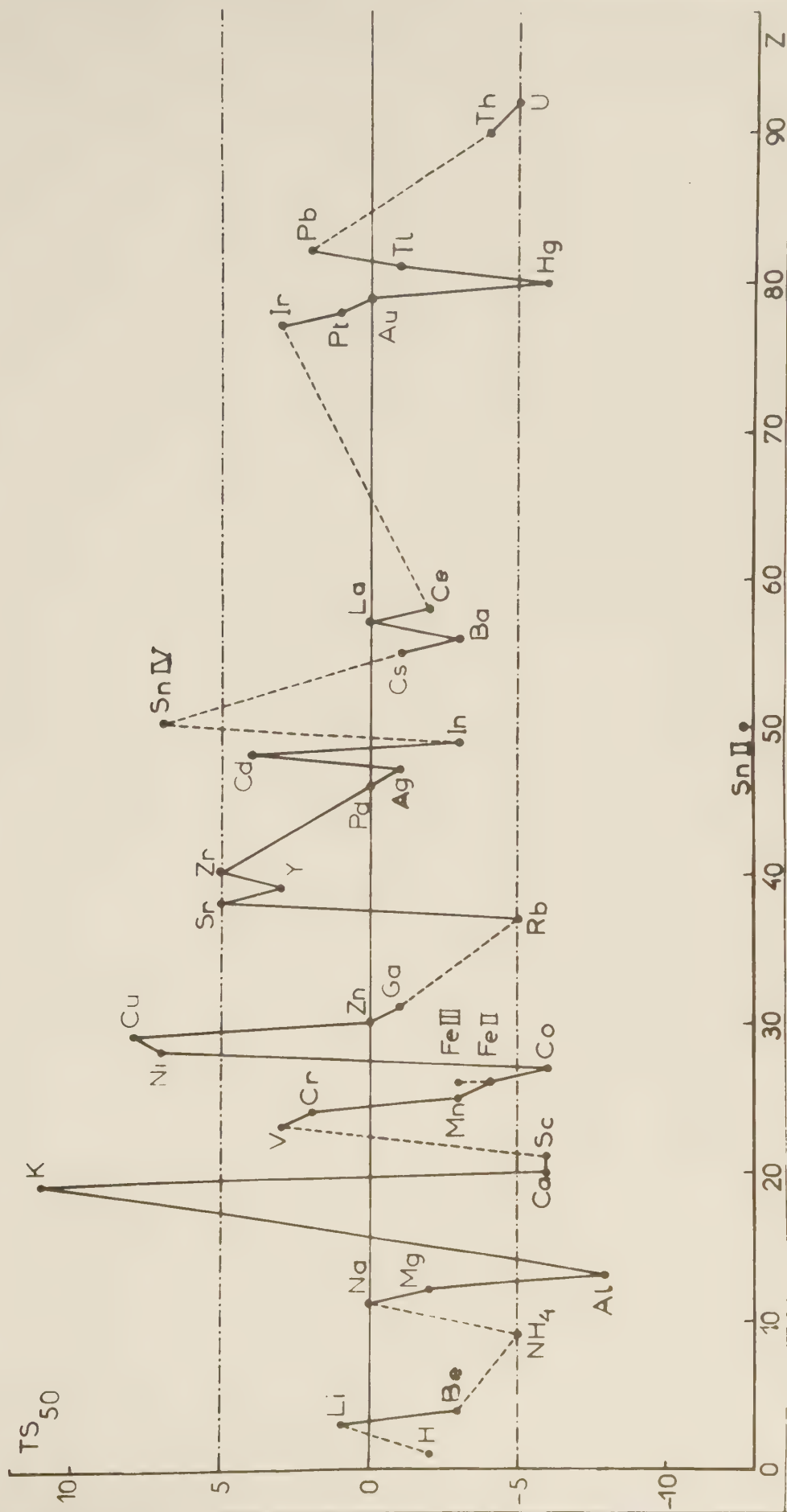


FIGURE 34 - Signification statistique des variations de la radiosensibilité de souris traitées par un ion métallique en fonction du numéro atomique du métal.

En ordonnée, valeur du TS explicitées dans le texte, en abscisse Z , le numéro atomique de l'élément considéré.

l'inverse de Sn (IV) considéré comme radioprotecteur (fig. 29 et 30).

Les résultats que nous venons de discuter paraissent d'une interprétation bien délicate et il semble difficile de pouvoir rattacher les effets observés à un seul mécanisme.

On peut noter cependant que les éléments ayant dans nos conditions expérimentales un pouvoir radioprotecteur chez la souris, le nickel, le vanadium et le chrome, sont paramagnétiques (120).

Ils partagent certes cette propriété avec d'autres cations jugés inactifs tels que Mn, Co, ou même radiosensibilisants, Fe (II), mais ceux-ci sont caractérisés par des possibilités de transfert d'électrons qui n'existent pas pour le nickel et semblent irréalisables pour le vanadium et le chrome dans les milieux biologiques.* (127).

Les ions non paramagnétiques, tels que Zn, Ga, Sc, Ca... n'ont présenté aucune activité radioprotectrice. Le potassium seul fait exception, mais cette propriété particulière à l'ion K^+ est sans doute liée à une diminution de la respiration cellulaire (73).

Les résultats que nous venons de rapporter concordent mal dans l'ensemble avec les données de la littérature.

Ce fait ne doit pas surprendre outre mesure : les essais que nous avons rappelés dans la première partie de ce travail sont eux-mêmes souvent contradictoires. Ils représentent jusqu'ici des expérimentations limitées, réalisées avec des protocoles très différents de celui que nous avons adopté.

Au demeurant nos essais ne représentent qu'une tentative systématique de "triage".

Il y aura lieu, semble-t-il, de poursuivre ces recherches avec les éléments chez lesquels une certaine activité radioprotectrice a été

décelée, dans le but de préciser notamment :

- le coefficient de réduction de la dose *;
- l'influence éventuelle d'injections répétées au cours de l'essai (l'action radioprotectrice du cobalt signalée dans la littérature (117) et que nous n'avons pas retrouvée au cours des essais semble liée à une répétition des doses dans les jours qui suivent l'irradiation).

Enfin, si les premiers essais portant sur des chélates à l'EDTA n'ont pas permis de mettre en évidence une augmentation des propriétés radioprotectrices par chélation, mais au contraire pour certains d'entre eux, une nette tendance à des effets radiosensibilisants, il paraît logique d'envisager l'étude d'autres chélates, tout particulièrement ceux obtenus en combinant les éléments métalliques déjà retenus avec des radioprotecteurs connus qui sont également des agents chélatants.

* "Dose reduction factor" (DRF) ou facteur de réduction de la dose : chiffre par lequel il faut multiplier la dose sous protection pour obtenir une mortalité identique à celle que l'on obtiendrait sans protection.

CONCLUSIONS

Nous avons rapporté les essais réalisés à l'aide d'une source de rayonnement gamma (cobalt 60) pour mettre en évidence l'influence éventuelle de l'administration de 42 cations et certains de leurs chélatés à l'acide éthylènediaminetétracétique sur la radiosensibilité de la souris.

Les critères retenus au cours de ces essais ont été les variations de la dose létale 70 pour 100 au trentième jour (DL 70/30), du temps de survie médian (TS 50) et les données statistiques tirées de l'analyse séquentielle, préconisée tout particulièrement pour une telle étude.

Bien que les conditions expérimentales et les tests adoptés ne représentent qu'une prospection, les résultats obtenus permettent de considérer comme doués de propriétés radioprotectrices trois éléments de la série de transition, le nickel, le chrome, le vanadium et un métal alcalin, le potassium.

Quelques métaux, chélatés ou non, parmi lesquels l'aluminium, le beryllium, le fer ferreux, ont au contraire présenté un effet radiosensibilisant ou ont conduit tout au moins à une létalité augmentée dans les lots traités.

Ces données expérimentales sont d'une interprétation très délicate dans l'état actuel de nos connaissances et il ne semble pas possible de rattacher les effets observés à un seul mécanisme.

Le Président de la Thèse :

Pr A. CIER

Vu, le Doyen :

J.F. CIER

Vu et permis d'imprimer
Lyon, le 28 Novembre 1963
Le Recteur, Président du
Conseil de l'Université,
P. LOUIS

B I B L I O G R A P H I E

- 1 - ABRAMS, H.L. - Influence of age, body weight and sex on susceptibility of mice to the lethal effects of X-irradiation. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1951, 76, 729-32.
- 2 - AKIN, P.V., CONIGLIO, G., HUDSON, G.W. - Effect of oral administration of fat emulsions on survival of the irradiated rat. Rad. Research, 1957, 6, 543-47.
- 3 - ALEXANDER, P., BACQ, Z.M., COUSENS, S.F., FOX, M., HERVE, A., LAZAR, J. - Mode of action of some substances which protect against the lethal effect of X-rays. Rad. Research, 1955, 2, 392-415.
- 4 - VON ALTMANN, H., STEHLIK, G., KAINDL, K. - Beeinflussung der strahlen-resistenz durch Metallionen. Atompraxis, 1963, 9, 255-59.
- 5 - ANGELICO, R., QUINTILIANI, M. - Numeral contents of the diet and radio-sensitivity preliminary results on effect of Manganese. Boll. Soc. Ital. Biol. Sper., 1959, 35, 1738-41. (Chem. Abst., 56, 11969 g).
- 6 - ANTIPOV, V.V., KRASNYKH, I.G. - The prophylaxis of radiation sickness. Med. Radiol., 1959, 4, 63-65.
- 7 - ARAKAWA, S., TSURAMI, N., OIKAWA, H., OTSU, T. - Effects of germanium dioxide, D-fructose solution on the X-ray injury of mice. TanKen, 1959, 10, 289-302. (Chem. Abst., 54, 4895 h).
- 8 - BACQ, Z.M., HERVE, A. - Cyanure et rayons X. J. Physiol., 1949, 41, 124-25.
- 9 - BACQ, Z.M., HERVE, A. - Protective action of methylamine against X-irradiation. Nature, 1951, 168, 1126.
- 10 - BACQ, Z.M., HERVE, A. - Protection of mice against a lethal dose of X-rays by cyanide, azide, malonitrile. Brit. J. Radiol., 1951, 24, 617-21.
- 11 - BACQ, Z.M., and HERVE, A., LECOMTE, J., FISCHER, P. - Cyanide protection against X-irradiation, Science, 1951, 111, 356-57.
- 12 - BACQ, Z.M., HERVE, A., LECOMTE, J., FISCHER, P., BLAVIER, J., DESCHAMPS, G., LEBIHAN, H., RAYET, P. - Protection contre le rayonnement X par la β -mercaptoethylamine. Arch. Intern. Physiol., 1951, 59, 442-47.

- 13 - BACQ, Z.M., HERVE, A. - Protection chimique contre le rayonnement X. Bull. Acad. R. Med., Belgique, 1952, 18, 13-58.
- 14 - BACQ, Z.M., HERVE, A., FISCHER, P. - La cystéamine, protection par voie orale contre le rayonnement X. Bull. Acad. R. Med., Belgique, 1953, 18, 428-436.
- 15 - BACQ, Z.M. - The amines and particularly cystéamine as protectors against roentgen rays. Acta Radiol., 1954, 41, 47-55.
- 16 - BACQ, Z.M., ALEXANDER, P. - "Principes de Radiobiologie", 1955, Masson, Paris.
- 17 - BACQ, Z.M., LIBECQ, HUTTER, S., LIBECQ, C. - Protection against irradiation afforded by sodium fluoroacetate. Rad. Research, 1960, 13, 286-97.
- 18 - BACQ, Z.M., ALEXANDER, P. - Mechanisms of chemical radiation protection, in "The initial effects of ionizing radiations on cells" (HARRIS, R.J., ed) 1960, Academic Press. New-York, pp. 300-14.
- 19 - BACQ, Z.M., ALEXANDER, P. - "Fundamentals of radiobiology", 1961, Pergamon Press, New-York.
- 20 - BANE, H.N., CONRAD, J.T., TARNOWSKI, G.S. - Combination therapy of malignant tumors with ionizing radiations and chemicals. Cancer Res., 1957, 17, 551-66.
- 21 - BARNES, J.H., PHILPOT, J. - Protection of inorganic phosphates against the lethal effects of X-rays. Nature 1961, 192, 574-75.
- 22 - BARRON, E. - The effect of ionizing radiations on systems of biological importance. Ann. N. Y. Acad. Sci., 1955, 59, 574-94.
- 23 - VAN BEKKUM, D.W. - The protective action of dithiocarbamates against lethal effects of X-irradiation in mice. Acta Physiol. Pharmacol., 1956, 4, 508-23.
- 24 - BERNARD, Y. - Contribution à l'étude du noyau imidazole et de quelques-uns de ses dérivés en radioprotection chimique. Thèse de Pharmacie, Lyon, 1962.
- 25 - BETZ, C.H. - Sur le mécanisme de protection par la thiourée chez la souris irradiée à dose léthale de Rx. Compt. Rend. Soc. Biol., 1954, 148, 1915-18.
- 26 - BIENVENU, P., NOFRE, C., CIER, A. - Toxicité générale comparée des ions métalliques. Relation avec la classification périodique. Compt. Rend. Acad. Sci., 1963, 256, 1043-44.
- 27 - BLOUNT, H. - Effect of magnesium on the response of mice to large doses of whole-body irradiation. J. Radiology, 1955, 65, 250-52.
- 28 - BONET-MAURY, P. - Mesure de la toxicité à l'aide d'un papier logarithmo-probit. Compt. Rend. Soc. Biol., 1943, 137, 100-03.

- 29 - BONET-MAURY, P., PATTI, F. - Essais de protection de la souris après irradiation générale par les rayons X. J. Radiol. Electrol., 1953, 34, 636-40.
- 30 - BOWEN, H., CAWSE, P.A. - Rad. Botany, 1962, 1, 215 (d'après réf. 4).
- 31 - BOYLAND, E., GALLICO, E. - Catalase poisons in relation to changes in radiosensitivity. Brit. J. Cancer, 1952, 6, 160-72.
- 32 - BUCHET, R. - "Eléments de radiobiologie appliquée", 1962, Masson, Paris.
- 33 - BURNETT, W.T., MORSE, M.L., BURKE, A.W., HOLLAENDER, A. - Reduction of the X-ray sensitivity of Escherichia coli by sodium hydrosulfite and certain other inorganic sulfur compounds. J. Bacteriol., 1952, 63, 591-95.
- 34 - BUTLER, J.A., ROBINS, A.B. - Metal ion redox system as radiation protective agents. Nature, 1961, 193, 673-74.
- 35 - CHAPMAN, W.H., CRONKITE, C. - Further studies of the beneficial effect of glutathione on X irradiated mice. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1950, 75, 318-22.
- 36 - CHAPMAN, W.H., SIPE, C.R., ELTZHOLTZ, D.C., CRONKITE, C., CHAMBERS, F.W. - Sulfhydryl containing agents and the effects of ionizing radiations. Radiology, 1950, 55, 865-73.
- 37 - CHEYMOL, J., LOUW, J. CHABRIER, P., ADOLPHE, M. - Essai de protection chimique contre les radiations γ du Cobalt 60 et des rayons X. Bull. Acad. Nat. Médecine, 1960, 144, 665-75.
- 38 - CIBA FOUNDATION - "Ionizing radiations and cell metabolism". CHURCHILL, LONDON, 1956.
- 39 - CIER, A., NOFRE, C., ECALLE, R. - Réactivité comparée des composés sulfurés radioprotecteurs avec le diphényl-picrylhydrazyle. Compt. Rend. Acad. Sci., 1962, 255, 2840-42.
- 40 - CIER, A. TINE, J., NOFRE, C. - Etude comparative chez la souris des effets radioprotecteurs de quelques cations. Compt. Rend. Soc. Biol., sous presse.
- 41 - CLEMENT, J.M. - Contribution à l'étude de la toxicité de quelques ions métalliques et de leur chélate à l'EDTA. Thèse Pharmacie. LYON, 1962.
- 42 - COLE, L.J., BOND, W.P., FISCHLER, M.C. - Preprotection of mice against X-irradiation mortality by NO_2Na . Science, 1952, 115, 644-46.
- 43 - COLE, L.J., ELLIS, M.E. - Additivity of radiation protection by cysteine and sodium nitrile in mice. Am. J. Physiol., 1953, 175, 429-36.
- 44 - CORRADI, C., PAOLETTI, A., POZZA, E. - Attività di alcune sostanze chelante sulla sopravvivenza di topi irradiati. Atti. Soc. Lombarda. Sci. Med. Biol., 1957, 12, 3-7.

- 45 - CORRADI, C., PAOLETTI, A., et POZZA, E. - Attivita di alcune sostanze chelante sulla sopravivenza di sorcio irradiati. Atti. Soc. Lombarda. Sci. Med. Biol., 1958, 13, 71-75.
- 46 - DALE, W.M., DAVIES, J.V., MEREDITH, W.J. - Further observations on the protection effect in radiation chemistry. Brit. J. Cancer, 1949, 3, 31-41.
- 47 - DANIEL, G.E., PARK, H.D. - A protective effect of inorganic magnesium against roentgen radiation damage to hydra. Am. J. Roentgenol., 1954, 72, 857-66.
- 48 - DEFAYOLLE, M. - "Manuel de statistique" (Centre de Recherches du Service de Santé des Armées). LYON, 1962.
- 49 - DOHERTY, D.J., BURNETT, W.T. - Protective effect of S, β aminoethylisothiuronium. Br. HBr, and related compounds against X-radiation death in mice. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1955, 89, 312-14.
- 50 - DOHERTY, D.J., SHAPIRA, R., BURNETT, W.T. - Synthesis of aminoalkylisothiuronium salts and their conversion to mercaptoalkylguanidines and thiazolines. J. Am. Chem. Soc., 1957, 79, 5667-71.
- 51 - DOULL, J., PLZAK, W., BROIS, S.J. - A survey of compounds for radiation protection. USAF Radiation Laboratory University of Chicago. Report April 1962.
- 52 - DOWDY, A.H., BENNETT, L.R., CHASTAIN, S.M. - Protective action of anoxio-anoxia against total body Roentgen irradiation of mammals. Radiology, 1950, 55, 879-85.
- 53 - DREVON, B., DEFAYOLLE, M., CIER, A., COQUET, B. - La détermination des toxicités générales aiguës. Etude comparative de deux méthodes d'échantillonnage pour la mesure de la dose léthale 50. Bull. Trav. Soc. Pharm. LYON. Sous presse.
- 54 - DUMAS, J. - Les animaux de laboratoire, 1953, Flammarion, PARIS.
- 55 - DUPLAN, J.F., ROSENBERG, A.J. - Action préservative de la glucosamine vis-à-vis de l'action léthale d'une irradiation totale par rayons X chez la souris. Compt. Rend. Acad. Sci., 1954, 239, 116.
- 56 - DUPLAN, J.F., ROYER, R., MICHELET, R. - Action protectrice de certains azoïques thymoliques sur la mortalité des souris irradiées avec des rayons X. Compt. Rend. Soc. Biol., 1957, 151, 1655-57.
- 57 - DUPLAN, J.F. - Incidence des radioleucoses lymphoïdes chez les souris protégées contre l'effet léthal des rayons X par des substances chimiques. Compt. Rend. Soc. Biol., 1958, 152, 254-56.
- 58 - ELDJARN, L., PIHL, A. - The scope of chemical protection against ionizing radiation in mammals. Proc. Intern. Conf. Peaceful Use Atomic Energy, Geneva, 1955, 11, 389.

- 59 - ELDJARN, L., PIHL, A. - Mechanisms of protective and sensitizing action. In "Mechanisms in Radiobiology", (ERRERA, M., FORSSBERG, A., ed.) 1960, 2, Academic Press, NEW YORK, pp. 275-87.
- 60 - ELKELES, A. - Calcium and its relationship to radiosensitivity and cancer. Nature, 1962, 193, 1089.
- 61 - ELLINGER, F. - Influence of dose fractionation on the lethal X-ray effect produced by total body irradiation in mice. Radiology, 1942, 49, 238.
- 62 - EVANS, J.C., ORKIN, L.R. - Protective effect of N₂O against total body irradiation in the mouse. Nature, 1962, 195, 822-23.
- 63 - FRICKE, H., MORSE, S. - The chemical action of Roentgen rays on dilute ferrosulfate solutions as a measure of dose. Am. J. Roentgenol, 1927, 18, 430-32.
- 64 - GART, J.J. - Modification of a sequential procedure for radiation protection with mice. Rad. Research, 1961, 15, 616-24.
- 65 - GHYS, R. - Action radioprotectrice de la testostérone et de quelques autres hormones stéroïdes. J.Belge Radiol., 1958, 41, 736-55.
- 66 - GHYS, R., LOISELLE, J.M. - Les facteurs influençant les réactions des animaux soumis à une irradiation totale non fractionnée. Revue Canad. Biologie, 1960, 19, 53-79.
- 67 - GRAY, J.L., TEW, J.T., JENSEN, H. - Protective effect of serotonin and of p. aminopropiophenone against lethal doses of X-irradiation. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1952, 80, 604-7.
- 68 - GRAY, L.H. - In Haïssinsky (Réf. 72), 1958, pp. 104-12.
- 69 - HAGEN, C.W., SIMMONS, E.L. - Effects of total body X-irradiation of rats. Part. I. Lethal action of single, paired and periodic doses, USAEC Report, MDDC, 1210, 1947.
- 70 - HAGEN, U., BLUMENFELD, G. - Mechanism of the action of 2-aminoethylisothiuronium bromide hydrobromide in radiation protection. Z. Naturforsch, 1956, 11 b, 607-8.
- 71 - HAGEN, U. - Chemical and biological action of protective SH-compounds. In "Advances in Radiobiology" (HEVESY, G. and all., ed.), 1957, OLIVER and BOYD, Edinburgh, pp. 187-91.
- 72 - HAISSINSKY, M. - "Actions chimiques et biologiques des radiations". 4ème série : Les peroxydes organiques en radiobiologie, 1958, Masson, Paris.
- 73 - HANSON, J.B. - Impairment of respiration, ion accumulation and ion retention in root tissue treated with ribonuclease and ethylenediaminetetracetic acid. Plant. Physiol., 1960, 35, 372-79.

- 74 - HARTWIG, Q.L., LEFFINGWELL, T.P., MELVILLE, G.S. - Some toxic effects of yttrium and lanthanum. Arch. Ind. Health, 1958, 18, 505-10.
- 75 - HAZAMA, Y., HAZAMA, K., EHREMBERG, L. - The influence of paramagnetic ions on the radiation sensitivity of plant seeds. Radiation Botany, 1963, 3, 7-18.
- 76 - HERVE, A., BACQ, Z.M. - Effet du cyanure sur la dose létale de rayons X. Compt. Rend. Soc. Biol., 1949, 143, 881-83.
- 77 - HERVE, A., BACQ, Z.M., BETZ, H. - Protection against X-rays by sodium cyanide and azide. J. Chim. Phys., 1951, 48, 256-57.
- 78 - HÖFS, W., LUDEWIG, R. - Increasing sensitivity of skin tumors to X-rays by cutaneous hydrogen peroxide application. Dermatol. Wochenschr., 1959, 134, 353-60.
- 79 - HOLLAENDER, A., STAPLETON, G.E. - Fundamental aspects of radiation protection from a microbiological point of view. Physiol. Rev., 1953, 33, 77-84.
- 80 - HOLLÖ, Z.M., ZLATAROV, S. - The prevention of death from X-rays by Selenium salts given after irradiation. Naturwissenschaften, 1960, 47, 328-31.
- 81 - HOLMBERG, B., SORBO, B. - Protective effect of beta-aminoethyl-thiosulfuric acid against ionizing radiation. Nature, 1959, 183, 832-33.
- 82 - KALUSZYNER, A., CZERNIAK, P., BERGMANN, E.D. - Thiazolidines and aminoalkylthiosulfuric acids as protecting agents against ionizing radiation. Rad. Research, 1961, 14, 23-28.
- 83 - KHYM, J.X., SHAPIRA, R., DOHERTY, D.G. - Ion-exchange studies of trans-guanylation reactions. I. Rearrangement of S, 2-aminothylisothiouraea to 2-mercaptoethylguanidine and 2-aminothiazoline. J. Am. Chem. Soc., 1957, 79, 5663-66.
- 84 - KIMBALL, A.W., BURNETT, W.T., DOHERTY, J.R., and D.G. - Chemical protection against ionizing radiation. I. Sampling methods for screening compounds in radiation protection studies with mice. Rad. Research, 1957, 7, 1-12.
- 85 - KOCH, R. - Die Bedeutung der Sulfhydrylverbindungen für Radiobiologie. Arzneimittelforsch., 1955, 5, 271-75.
- 86 - KOCH, R. - The problem and constitution of radiation sensitizing agents. In "Advances in Radiobiology" (HEVESY, G., and all., ed.), 1957, OLIVER and BOYD, Edinburgh, pp. 170-75.
- 87 - KOHN, H.I., KALLMAN, R.F. - The influence of strain on acute X-ray lethality in the mouse. Part. I - DL50 and death rate studies. Rad. Research, 1956, 5, 309-17.
- 88 - KOHN, H.I., KALLMAN, R.F. - The influence of strain on acute X-ray lethality in the mouse. Part. II - Recovery rate studies. Rad. Research, 1957, 6, 327-38.

- 89 - KONSTANTINOVA, M.M., GRAESKII, E.Y. - Tissue hypoxia as the mechanism of the radioprotective action of adrenalin, heroin and morphine. DOKL., Akad. Navk. SSSR., 1960, 132, 1427-31.
- 90 - LACASSAGNE, A. - Chute de la sensibilité aux rayons X chez la souris nouveau-née en état d'asphyxie. Compt. Rend. Acad. Sci., 1942, 215, 231-32.
- 91 - LACASSAGNE, W.H., DUPLAN, J.F., BUU-HOI, N.P. - Protection par les 4-acyl-pyrogallates contre l'effet des rayons X chez la souris. Compt. Rend. Acad. Sci., 1954, 238, 1279-81.
- 92 - LAMBERT, G., MAISIN, J., MANDART, M., MEERSSEMAN, F., PODIO, G., PLUYGERS, E. - Influence de certains ions métalliques sur la survie des rats recevant une dose létale de rayons X. Compt. Rend. Soc. Biol., 1950, 144, 444-48.
- 93 - LANGE, R., PIHL, A., ELDJARN, L. - The inactivation of SH-enzymes by X-rays. Intern. J. Rad. Biol., 1959, 1, 73-79.
- 94 - LANGENDORFF, H., KOCH, R. - Untersuchungen über einen biologischen strahlenschutz. VI - Über die absterbeordnung röntgenbestrahlter Mäuse, die unterschiede des Geschlechtes und einfluß der keimdrüsen auf die strahlenempfindlichkeit. Strahlentherapie, 1954, 94, 250-57.
- 95 - LANGENDORFF, H., KOCH, R., HAGEN, R. - Zur spezifität des cystein und verwandter sulfhydrylkorper beim strahlenschutz. Strahlentherapie, 1954, 95, 238-50.
- 96 - LANGENDORFF, H., KOCH, R. - Biological protection against radiation. XI - Do amines have a radiation protective action? Strahlentherapie, 1955, 98, 245-54.
- 97 - LANGENDORFF, H., KOCH, R., HAGEN, R. - Toxic effect of thiourea as the means of its radioprotective effects. Arch. Intern. Ph. Therapie, 1955- 104, 57-62.
- 98 - LANGENDORFF, H., KOCH, R., HAGEN, U. - Untersuchungen über einen biologischen strahlenschutz. XIII - Der einfluss energiereicher phosphate und phosphorylierter vitamine auf die strahlenempfindlichkeit von ratte und maus. Strahlentherapie, 1956, 99, 375-82.
- 99 - LANGENDORFF, H., KOCH, R. - Untersuchungen über einen biologischen strahlenschutz. XIV - Weitere untersuchen zur spezifität der strahlenschutz wirkung von cystein-cysteamin and verwandter sulfhydrylkorper. Strahlentherapie, 1956, 99, 567-76.
- 100 - LANGENDORFF, H., KOCH, R., HAGEN, U. - Die fehlende strahlenschutz wirkung der nicht zur cystein-cysteamin. Gruppe gehörigen sulfhydrylkorper. Strahlentherapie, 1956, 100, 137-41.
- 101 - LANGENDORFF, H., KOCH, R. - Untersuchungen über einen biologischen strahlenschutz. XVIII - Die wirkung zentralerregender pharmaka auf das bestrahlte tier. Strahlentherapie, 1957, 102, 58-64.

- 102 - LANGENDORFF, M., MELCHING, H., LANGENDORFF, H., KOCH, R., JACQUES, R. - Untersuchungen über einen biologischen strahlenschutz. XXI - Weitere untersuchungen zur wirkung zentral-erregender und dämpfender pharmaka auf die strahlenempfindlichkeit des tieres. Strahlentherapie, 1957, 104, 338-44.
- 103 - LANGENDORFF, H., LANGENDORFF, M., KOCH, R. - Untersuchungen über einen biologischen strahlenschutz. XXIV - Ueberprüfung des spezifischen strahlenschutzeffektes der cystein-cysteamin gruppe unter berucksichtigung eines mercaptopyridinderivates. Strahlentherapie, 1958, 107, 121-25.
- 104 - LEITCH, J.L. - X-irradiation protection studies. II - Modification of the radiation syndrom in female DAL-Swiss Mice by AET and 5-HT. Rad. Research, 1961, 15, 641-47.
- 105 - LOISELEUR, J. - Intervention de l'oxygène en radiobiologie. Ann. Inst. Pasteur, 1953, 84, 1001-09.
- 106 - VAN DER MEER, C., VAN BEKKUM, D.W. - The mecanism of radiation protection by histamine and other biological amines. Int. J. Rad. Biol., 1959, 1, 5-8.
- 107 - MIKHAILOW, V., BOZDUGANOV, A. - Role of Magnesium compounds in experimental radiation sickness. Med. Radiol., 1961, 6, 75-76.
- 108 - MILLER, L., TAINTER, M. - Estimation of the LD₅₀ ans its errors by means of logarithm-probit graph paper. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1944, 57, 261-67.
- 109 - MITCHELL, J.S., in "Radiology Symposium. Proc., Liège" Butterworths, LONDON, 1954, pp. 170-93.
- 110 - NOFRE, C., CIER, A., LEFIER, A. - Activation de l'oxygène moléculaire en solution aqueuse par les ions métalliques et leurs chélates. Bull. Soc. Chim., 1961, 530-35.
- 111 - NOFRE, C., CIER, A., PAQUELIER, A. - Activité radiomimétique de l'ion ferreux chélaté. Path. Biol., 1962, 10, 1203-11.
- 112 - NOFRE, C., CIER, A. - Effects of hydroxyl free radicals on pyrimidine bases. In "Electronic Aspects of Biochemistry" (Pullmann, B. ed.) Academic Press, NEW-YORK (sous presse).
- 113 - PALMIERI, G.G. - The action of detectors in radiation biology and therapy. Strahlentherapie, 1958, 106, 232-44.
- 114 - PAQUELIER, A. - Contribution à l'étude du mécanisme d'action biologique des radiations ionisantes. Thèse Médecine, LYON, 1961.
- 115 - PAQUELIER, A., CIER, A., MOURIQUAND, C., CLEMENT, J.M., NOFRE, C. - Effet radiomimétique de l'ion ferreux chélaté. Compt. Rend. Acad. Sci., 1961, 252, 1227.

- 116 - PARR, W.H., VAN METRE, R.A. - The effect of subcutaneously injected cobalt on the erythropoietic activity and radiosensitivity of X irradiated mice. P B Rept., 137.309, 20 pp.
- 117 - PARR, W., O'NEILL, T., BUSH, S., KREBS, A. - Further investigations into the modification of radiation sensitivity afforded by cobalt. Science, 1954, 119, 415-16.
- 118 - PARR, W., O'NEILL, T., KREBS, A. - A study of the X-irradiation protection afforded by cobalt. Science, 1953, 117, 155-56.
- 119 - PASCAL, P. - Traité de chimie minérale, 1933, Masson, Paris, Tome IX, p. 34.
- 120 - PASCAL, P. - Nouveau traité de chimie minérale, 1958, Masson, Paris, Tome XII, p. 51.
- 121 - PATERSON, E., MATTHEWS, J.J. - Protective action of ethyl alcohol on irradiated mice. Nature, 1951, 168, 1126-27.
- 122 - PATERSON, E., GILBERT, C.W., MATTHEWS, J.J. - Time intensity factors and whole body irradiation. Brit. J. Radiol., 1952, 25, 427-32.
- 123 - PATT, H.M., TYREE, E.B., STRAUBE, R.L., SMITH, D.E. - Cysteine protection against X irradiation. Science, 1949, 110, 213-14.
- 124 - PATT, H.M., SMITH, D.E., TYREE, E.B., STRAUBE, R.L. - Further studies on modification of sensitivity to X-rays by cysteine. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1950, 73, 18-21.
- 125 - PATT, H.M., CLARK, J.W., VOGEL, H. - Comparative protective effects of cysteine against fast neutrons and gamma irradiation in mice. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1953, 84, 189-93.
- 126 - PATT, H.M., - In "Radiobiology Symposium Proc. Liège", 1954, Butterworths, London.
- 127 - PAULING, L. - "The nature of the chemical bond", 1960, Cornell, New-York.
- 128 - POTRATZ, E. - Salt of treatment of radiation injuries, Rev. 1.095 463, 22, Rec., 1960.
- 129 - POTTINGER, M.A., BACHOFER, C.S. - Protection of bacteriophage T₁ against X rays and heat, Arch. Bioch. Biophys., 1957, 70, 499-506.
- 130 - POWERS, E.L., KALETA, B.F. - Reduction of radiation sensitivity of dry bacterial spores with hydrogen sulfide. Science, 1960, 132, 959-60.
- 131 - RATCHINSKIY, F.Y., MOZJUKHIN, A.S., SLAVATCHEVSKAÏA, N.M., TANK, L.I. - Méthodes chimiques de prophylaxie des formes aiguës de la maladie des rayons. Progrès (USPEKHI) de la chimie, 1959, Tome XXVIII, 1488-1522, Moscou (URSS).

- 132 - RIXON, R.H., WHITFIELD, J.F. - Effect of EDTA on survival of X irradiated rats. Intern. J. Rad. Biol., 1961, 3, 439-42.
- 133 - RIXON, R.H., WHITFIELD, J.F. - Effect of multiple injections of calcium compounds on the survival of X irradiated rats. Nature, 1963, 195, 821-22.
- 134 - SCHWARTZ, E.E., SHAPIRO, D. - The protection of mice against radiation by 2-mercaptoethylguanidine and its disulfide. Rad. Research, 1960, 13, 631-38.
- 135 - SHAPIRO, R., DOHERTY, D.G., BURNETT, W.T. - Chemical protection against ionizing radiation. III - Mercaptoalkylguanidines and related isothiouonium compounds with protective activity. Rad. Research, 1957, 7, 22-34.
- 136 - SHAPIRO, N.I. - Revue de radiobiologie. Académie des Sciences, URSS, Institut de Physique Biologique, 1956.
- 137 - STORER, J.B., COON, J. - Protective effect of para-aminopropiophenone against lethal doses of X-irradiation. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1950, 74, 202-04.
- 138 - STRATEV, T., ALEXANDROV, K. - Les Microéléments cuivre et zinc dans le traitement prophylactique et curatif de la maladie des radiations. Compt. Rend. Acad. Bulgare Sci., 1961, 14, 543-46.
- 139 - SUTTON, H.C. - Effects of radiation on catalase solutions. II - The protective action of complexing agents. Biochem. J., 1956, 64, 456-60.
- 140 - TAKAYAMA, H., HIRANO, K., NISHIOKA, K., SUNADA, T. - Effect of hydrogen peroxide on sensitivity of Erlich ascites tumors cells to gamma radiation. Med. J. Osaka. Univ., 1959, 10, 219-25 (Chem. Abst., 54, 1712 b).
- 141 - TETSURO, A., KAWAMURA, F. - The effect of nitrite sodium on oxygen concentration in vivo. Bull. Research. Inst. Appl. Elec., Japan, 1954, 6, 263-68. (Chem. Abst., 50, 5799 c).
- 142 - THOMSON, J.F. - "Radiation protection in mammals", 1962, Reinhold, New-York.
- 143 - VANDERBILT, J. - An alternative mechanism for chemical protection against radiation damage. Nature, 1959, 185, 96-97.
- 144 - WALD, A. - "Sequential Analysis", 1947, John Wiley and Sons, New-York.
- 145 - WHITFIELD, J.F., RIXON, R.H. - Prevention of post irradiation mitotic delay in cultures of L-Mouse cells by calcium salts. Exp. Cell. Research, 1962, 27, 154-57.
-

TABLE DES MATIERES

	Pages
- INTRODUCTION	
 I - GENERALITES	
I ₁ - Moyens d'études de la radiosensibilité. Tests d'activité radioprotectrice ou sensibilisante.	7
I ₂ - Radioprotecteurs	11
I ₂ - 1. Composés sulfhydrylés et soufrés	11
I ₂ - 2. Dérivés aminés	14
I ₃ - Radiosensibilisants	16
I ₄ - Mécanismes d'action des agents chimiques capables de modi- fier la radiosensibilité	18
I ₄ - 1. Radiosensibilisants	18
I ₄ - 2. Radioprotecteurs	20
 II - TRAVAIL PERSONNEL	
II ₁ - Technique expérimentale	23
II ₁ - 1. Moyens mis en oeuvre	23
II ₁ - 2. Protocole expérimental	27
II ₁ - 3. Planification des expériences	28

II ₂ - Résultats	34
II ₂ - 1. Valeur de la DL ₅₀	34
II ₂ - 2. Modifications de la radiosensibilité chez la souris par des ions métalliques et certains de leurs chélates à l'EDTA	34
II ₂ - 3. Résultats de l'analyse séquentielle selon KIMBALL et courbe de survie/30 jours	35
II ₃ - Discussion des résultats	70
II ₃ - 1. Validité des protocoles expérimentaux	70
II ₃ - 2. Résultats et essais d'interprétations	72
- CONCLUSIONS	79
- BIBLIOGRAPHIE	80
